



Programa de Pós-graduação em Biotecnologia

BYANKA PORTO FRAGA

**OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE COMPLEXOS DE
INCLUSÃO (GERANIOL EM BETA-CICLODEXTRINA) SOBRE O
SISTEMA CARDIOVASCULAR DE RATOS**

ARACAJU/SE

2013

BYANKA PORTO FRAGA

**OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE COMPLEXOS DE
INCLUSÃO (GERANIOL EM BETA-CICLODEXTRINA) SOBRE O
SISTEMA CARDIOVASCULAR DE RATOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação RENORBIO da Universidade Federal de Sergipe como requisito obrigatório para obtenção do grau de Doutor em Biotecnologia.

Profº Drº Márcio Roberto Viana dos Santos

ARACAJU/SE

2013

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

F811o Fraga, Byanka Porto
Obtenção e avaliação farmacológica de complexos de inclusão (geraniol em beta-ciclodextrina) sobre o sistema cardiovascular de ratos / Byanka Porto Fraga ; orientador Márcio Roberto Viana dos Santos. – Aracaju, 2013.
109 f. : il.

Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO, Universidade Federal de Sergipe, 2013.

1. Biotecnologia – Aplicações médicas. 2. Hipertensão. 3. Essências e óleos essenciais. 4. Monoterpenos. 5. Geraniol. I. Santos, Márcio Roberto Viana dos, orient. II. Título.

CDU 606:616.12-008.331.1

BYANKA PORTO FRAGA

**OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE COMPLEXOS DE
INCLUSÃO (GERANIOL EM BETA-CICLODEXTRINA) SOBRE O
SISTEMA CARDIOVASCULAR DE RATOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação RENORBIO da Universidade Federal de Sergipe, como requisito obrigatório para obtenção do grau de Doutor em Biotecnologia.

Aprovada em ____/____/____

Orientador: Prof. Dr. Márcio Roberto Viana dos Santos
Universidade Federal de Sergipe – UFS

1º Examinador: Prof. Edilson Divino
Universidade Federal de Sergipe –UFS

2º Examinador: Prof. Dr. Roberto Rodrigues de Souza
Universidade Federal de Sergipe – UFS

3º Examinador: Prof. Dr. Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida
Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF

4º Examinador: Prof^a. Dr^a. Edna Aragão Farias Cândido
Universidade Tiradentes - UNIT

Dedico este trabalho à minha avó Edildes!

AGRADECIMENTOS

Concluo agora mais uma etapa da minha vida acadêmica, realmente chegar aqui não foi fácil, só quem trabalha e estuda sabe disso, mas buscamos força de algum lugar porque temos sonhos e é por ele que lutamos. Por isso, preciso agradecer a algumas pessoas que foram fundamentais para que chegasse neste momento.

Primeiramente a **Deus**, minha maior fonte de força e inspiração.

Ao Professor **Drº Márcio Roberto**, que acreditou e me incentivou desde o início. Obrigada por todos os ensinamentos e disponibilidade.

Ao Professor **Drº Leonardo Bonjardim**, que me apresentou a esse mundo de mestrado/doutorado e apostou em mim no início, meu exemplo de profissional. Obrigada por tudo!

Aos Professores **Drº Roberto Rodrigues**, **Drº Edilson Divino**, **Drª Edna Aragão** e ao **Drº Jackson Roberto** pela excelente contribuição na defesa.

E ainda aos professores **Adriano Antunes**, **Êurica Adélia**, **Isac Almeida**, **Murilo Marchioro** e **Rogéria Nunes** e as alunas **Mairim Russo** e **Paula dos Passos** pela ajuda e parceria na patente.

Flávia, que conheço desde pequena, mas foi agora no doutorado que nossa amizade se fortaleceu. Minha companheira de jornada, a pessoa que mais me ensinou e a maior força que tive para finalizar esse trabalho. Não sei o que seria de mim sem você. Amiga muito obrigada!

Paty Cunha, pela amizade e pelos ensinamentos, você foi fundamental nessa conquista.

Robervan, que chegou tem pouco tempo, mas cativou um lugar especial. Obrigada pela ajuda e pela amizade.

À minha mãe **Ana Luiza**, minhas irmãs **Taty** e **Thalyta**, a **Derci** e **Thiago**...por acreditarem em mim e por todo o amor de sempre.

Ao meu namorado, **Hans Hagenbeck**, meu melhor amigo e companheiro, meu maior conforto nas horas difíceis, sempre cheio de amor, paciência e carinho.

A todos do **LAFAC** que contribuíram com ensinamentos e boas risadas: **Ítalo**, **Mitchel**, **Vitor**, **Fabrício**, **Milene**, **Marcelo**, **André**, **Tharciano**, **Renata**, **João Eliakim**, **Ayslan** e **Kátia**.

Ao **Sr. Oswaldo** pelos cuidados com os animais.

À **CAPES**, **CNPq**, **FAPITEC/SE** pelo apoio financeiro.

*“O amor é a força mais abstrata, e também a
mais potente que há no mundo”*

Mahatma Gandhi

RESUMO

Muitas plantas são utilizadas no tratamento da hipertensão e a maioria dos seus compostos é de terpenóides, principalmente monoterpenos. Entre os monoterpenos presentes nestas plantas utilizadas neste tratamento, observamos o geraniol. O objetivo do estudo foi obter o complexo β CD+geraniol e verificar o efeito vasorelaxante e hipotensor em ratos. No artigo 1, foi realizada uma revisão sistemática em torno dos efeitos cardiovasculares dos monoterpenos e verificou-se que estes são agentes promissores na prevenção e no tratamento de doenças cardiovasculares. No artigo 2, foi realizado estudo *in vitro* com anéis da artéria mesentérica de ratos, onde o geraniol promoveu relaxamento independente de endotélio pela inibição do influxo de cálcio. No artigo 3, foi obtido no estado sólido β CD complexado com geraniol. No artigo 4, foi realizado um estudo *in vivo*, realizado com ratos hipertensos induzidos por L-NAME (7 dias-gavagem) e foi verificado efeito hipotensor do geraniol + β CD na dose de 50 mg/kg por 2 h após a administração. E por último, foi depositada uma patente de invenção de inclusão de geraniol e β CD, bem como seu método de obtenção e a sua atividade antihipertensiva.

Palavras-chave: óleo essencial, monoterpeno, geraniol, vasorelaxante, hipotensor

ABSTRACT

Many plants are used in the treatment of hypertension and many of its compounds is terpenoids, particularly monoterpenes. Among the monoterpenes present in these plants used in this treatment, we observed geraniol. The aim of the study was to obtain the complex β CD + geraniol and check the vasorelaxant and hypotensive effect in rats. In one article, was performed a systematic review around the cardiovascular effects of monoterpenes and it was found that they are promising agents in the prevention and treatment of cardiovascular diseases. In Article 2, the study was conducted *in vitro* with mesenteric artery rings of rats, where geraniol promoted endothelium-independent relaxation by inhibiting calcium influx. In the article 3 was obtained as a solid β CD complexed with geraniol. In article 4, a study was conducted *in vivo*, performed with hypertensive rats induced by L-NAME (7-days gavage) and the hypotensive effect was observed geraniol + β CD at a dose of 50 mg/kg for 2 h after administration. And last, was filed a patent for the inclusion of geraniol and β CD, as well as his method of obtaining and its antihypertensive activity.

Key Words: oil essential, monoterpene, geraniol, vasorelaxant, hypotensor

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1- INTRODUÇÃO	10
CAPÍTULO 2 - REVISÃO DE LITERATURA.....	12
- Regulação da pressão arterial e hipertensão arterial	
- Contração e relaxamento do músculo liso	
- Óleos essenciais	
- Ciclodextrina	
CAPÍTULO 3 – RESULTADOS.....	24
Artigo 1- Cardiovascular effects of monoterpenes: a review.....	25
Artigo 2- Vasorelaxant effect of the geraniol, a monoterpene alchohol, in rat artery.....	35
Artigo 3- Solid-state β -cyclodextrin complexes containing geraniol.....	52
Artigo 4- Efeitos do complexo geraniol + β - ciclodextrina em ratos hipertensos.....	59
Patente- Complexos de inclusão de geraniol e β -ciclodextrina, método de obtenção e atividade antihipertensiva do geraniol e seus complexos.....	70
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	98
ANEXOS.....	100
PROTOCOLO CEPA	
REFERÊNCIAS	

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais para o tratamento de doenças em seres humanos vem crescendo consideravelmente nos últimos anos em todo o mundo (CIRIGLIANO; SUN, 1998). Este crescimento foi demonstrado em um estudo realizado por De Freitas (2007) no período de 2003 a 2006 em que se percebe a grande movimentação financeira no país. O montante mobilizado pelo Brasil neste período alcançou o valor de R\$ 1.840.228.655, 00.

Um dos fatores que contribui para essa crescente circulação monetária em torno das plantas medicinais é o alto custo dos medicamentos industrializados (BRANDÃO et al., 2006). Por conta disso, mais de 50% da população brasileira, principalmente as pessoas de condições financeiras menos favoráveis, fazem uso de plantas medicinais ou fitoterápicos para tratar doenças agudas ou até mesmo crônicas, como a hipertensão arterial (VORA; MANSSOR, 2005).

Um exemplo disto é a reserpina, um alcalóide isolado da espécie *Rauwolfia serpentina* em 1953, que revolucionou o tratamento da hipertensão arterial (SAMY et al., 2008). Entretanto, produtos derivados de plantas podem produzir interações que levam ao aumento ou diminuição dos efeitos farmacológicos ou toxicológicos de drogas tradicionais usadas no tratamento de doenças relacionadas com o sistema cardiovascular (FUGH-BERMAN, 2000). Assim, é necessária a busca de informações científicas sobre a segurança e eficácia terapêutica, pois poucas plantas têm seus efeitos e mecanismos de ação estudados e confirmados (SIMÕES et al., 2000).

Em estudo prévio realizado por Menezes et al., 2010, utilizou-se o óleo essencial do *Cymbopogon Winterianus* (conhecido popularmente como capim santo e capim citronela), no qual comprovou os efeitos vasorelaxante e hipotensor. Então, sabendo que 40,06% do óleo do *Cymbopogon Winterianus* é composto de geraniol, o objetivo deste trabalho foi verificar os efeitos cardiovasculares do geraniol utilizando modelos experimentais em ratos, buscando elucidar possíveis mecanismos de ação.

CAPÍTULO 2

REVISÃO DE LITERATURA

REGULAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL E HIPERTENSÃO ARTERIAL

A regulação da pressão arterial (PA) é uma das mais complexas funções fisiológicas, pois é resultante da ação integrada dos sistemas cardiovascular, renal, neural e endócrino, que trabalhando em conjunto são responsáveis pela redistribuição dos vários fluxos sanguíneos regionais através de alterações na resistência total e no débito cardíaco (COMPAGNOLE-SANTOS; HAIBARA, 2001).

O controle da PA consiste de mecanismos regulatórios que se processam principalmente a curto e a longo prazos. A curto prazo, o controle de PA é exercido por mecanismos neurais, tais como: o sistema de barorreceptores, quimiorreceptores e receptores cardiopulmonares. Os barorreceptores são receptores de estiramento localizados nas paredes de grandes artérias sistêmicas, tais como aorta e carótida, que respondem rapidamente a modificações na pressão arterial; neles a frequência de descargas de impulsos aferentes aumenta durante a sístole e diminui durante a diástole (WATSON et al., 2000; NORDMANN et al., 2003). Já a longo prazo, o controle da PA está intimamente ligado à homeostasia do volume do líquido corporal, determinado pelo balanço entre a ingestão e a eliminação de líquido. Esse balanceamento é realizado por sistemas renais de controle do líquido corporal através de controles nervosos e hormonais, além de sistema de controle local, nos rins, que regulam a excreção de sal e água (CESARINO et al., 2008).

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial. Associa-se, frequentemente, a alterações funcionais e/ou estruturais dos órgãos-alvo (coração, encéfalo, rins e vasos sanguíneos) e a alterações metabólicas, com consequente aumento do risco de eventos cardiovasculares fatais e não-fatais (WILLIAMS, 2010).

A HAS é considerada como um fator de risco primário para doenças cardio e cerebrovasculares, podendo ocorrer em todas as idades e em ambos os sexos (CESARINO et al., 2008). Inquéritos populacionais em cidades brasileiras nos últimos 20 anos apontaram uma prevalência de HAS acima de 30%. Considerando-se valores de PA $\geq 140/90$ mmHg, 22 estudos encontraram prevalências entre

22,3% e 43,9%, (média de 32,5%), com mais de 50% entre 60 e 69 anos e 75% acima de 70 anos. Entre os gêneros, a prevalência foi de 35,8% nos homens e de 30% em mulheres, semelhante a de outros países. Revisão sistemática quantitativa de 2003 a 2008, de 44 estudos em 35 países, revelou uma prevalência global de 37,8% em homens e 32,1% em mulheres (CESARINO et al., 2008; ROSÁRIO et al., 2009; PEREIRA et al., 2009).

Em 2001, cerca de 7,6 milhões de mortes no mundo foram atribuídas à elevação da PA (54% por acidente vascular encefálico - AVE e 47% por doença isquêmica do coração - DIC) (WILLIAMS, 2010), sendo a maioria em países de baixo e médio desenvolvimento econômico e mais da metade em indivíduos entre 45 e 69 anos. No Brasil, as doenças cardiovasculares têm sido a principal causa de morte. Em 2007 ocorreram 308.466 óbitos por doenças do aparelho circulatório. Entre 1990 a 2006, observou-se uma tendência lenta e constante de redução das taxas de mortalidade cardiovascular (PEREIRA, et al., 2009). O estado hipertenso está associado com anomalias estruturais no sistema cardiovascular. Estas anomalias incluem aumento na relação parede *versus* luz das artérias, aumento na resistência periférica, diminuição da complacência venosa (TAKESHITA e MARK, 1979), aumento da quantidade da massa cardíaca e muscular vascular lisa (FOLKOW, 1987), além de anomalias intrínsecas na função renal (CESARINO et al., 2008).

A forma mais comum da hipertensão é a essencial que se caracteriza por uma elevação da pressão sangüínea sem causa aparente e está associada a vários fatores de risco como obesidade, consumo elevado de álcool, sedentarismo, genética, idade, gênero e etnia, fatores socioeconômicos e ingestão de sal (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010).

Atualmente existem diversos medicamentos amplamente utilizados no tratamento da hipertensão, os quais incluem vários grupos de drogas tais como: diuréticos, betabloqueadores, inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA), bloqueadores dos canais para Ca^{2+} , além dos antagonistas dos receptores da angiotensina II (DAHLOF et al., 2002; NEAL et al., 2000). No entanto, algumas das substâncias desses grupos de drogas têm significativos efeitos colaterais,

principalmente sobre o sistema nervoso central. Dentre elas podemos citar: o propranolol (bloqueador não-seletivo dos receptores beta-adrenérgicos), que provoca depressão do sistema nervoso central e alucinações, a clonidina (agonista alfa-adrenérgico) destaca-se a hipertensão de rebote, quando da suspensão brusca da medicação, e a ocorrência mais acentuada de boca seca, o verapamil e diltiazem (antagonistas dos canais para Ca^{2+}), podem provocar depressão miocárdica e bloqueio atrioventricular (PODYMOW et al., 2004).

Estes efeitos colaterais associados com os altos custos dos medicamentos são as principais causas da elevada taxa de abandono do tratamento, a qual, no Brasil, gira em torno de 30 a 40% dos pacientes tratados (GUS et al., 2004).

Muitos remédios à base de ervas medicinais têm sido popularmente usados para o tratamento desta doença (VORA e MANSSOR, 2005). Um exemplo disto é a reserpina, um alcalóide isolado da espécie *Rauwolfia serpentina*, em 1953, que revolucionou o tratamento da hipertensão arterial (SAMY et al., 2008).

CONTRAÇÃO E RELAXAMENTO DO MÚSCULO LISO

O músculo liso é o principal tipo de músculo que controla e regula o funcionamento da maioria dos órgãos do corpo, representa uma ferramenta útil para a investigação de atividades biológicas de substâncias de qualquer fonte, seja natural ou sintética (ROSÁRIO et al., 2009). A contração do músculo liso é dependente do aumento da concentração de Ca^{2+} intracelular através do influxo extracelular e liberação de cálcio dos estoques intracelulares (SOMLYO; SOMLYO, 1994), possuindo um papel importante na regulação e manutenção da pressão arterial (SONKUSARE et al., 2006). O tônus miogênico das pequenas artérias e arteríolas podem iniciar a primeira elevação da pressão arterial e ainda elevar a resistência vascular periférica e os níveis de pressão (GEBREMEDHIN et al., 1990; HAYASHI et al., 1996).

A atividade contrátil de células musculares lisas de artérias e arteríola é o principal determinante da resistência ao fluxo sanguíneo através da circulação. Assim, o tônus vascular desempenha um papel importante na regulação da pressão

arterial e da distribuição do fluxo sanguíneo entre e dentro dos tecidos e órgãos do corpo. A regulação da atividade contrátil das células musculares lisas na circulação sistêmica é dependente de uma complexa interação de substâncias vasodilatadoras e vasoconstrictoras, estímulos de hormônios circulantes, neurotransmissores e de fatores derivados do endotélio que regulam a pressão arterial (JACKSON, 2000).

Todos estes sinais são integrados por células musculares vasculares para determinar a atividade do aparato contrátil, o diâmetro e resistência ao fluxo dos vasos sanguíneos. Os canais iônicos desempenham um papel central neste processo. Como em todas as células musculares, a musculatura lisa vascular utiliza íons Ca^{2+} como um mecanismo de acionamento do processo de contração. O influxo de cálcio através de canais Ca_v na membrana plasmática e liberação de cálcio dos estoques intracelulares são as principais fontes para a ativação do mecanismo da contração (JACKSON, 2000).

A regulação funcional da $[\text{Ca}^{2+}]_i$ para disparar uma resposta contrátil no músculo liso está relacionada com dois estímulos que levam a dois tipos de acoplamentos: (1) acoplamento eletromecânico, que está envolvido com a mudança de potencial de membrana (V_m) e (2) acoplamento fármaco-mecânico quando a contração induzida por um agonista é sempre maior que a observada só com a mudança de V_m (REMBOLD, 1996).

Os mecanismos que levam a uma resposta contrátil através do acoplamento eletromecânico são devido a uma despolarização de membrana, seja diretamente pelo aumento da concentração externa de K^+ ou indiretamente pela ligação dos agonistas aos seus receptores, levando a abertura de canais de cálcio operados por voltagem (Ca_v s) causando influxo de Ca^{2+} no citoplasma e conseqüentemente a contração (REMBOLD, 1996).

Já os mecanismos que levam a uma resposta contrátil através do acoplamento fármaco-mecânicos incluem: (1) aumento de IP_3 devido à ligação do agonista com o receptor, ativando a proteína $\text{Gq}/11$ -fosfolipase C (PLC). Neste mecanismo, o IP_3 liga-se a um receptor presente na membrana do R.S. permitindo a liberação de Ca^{2+} dos estoques intracelulares, formação do complexo Ca^{2+}_4 -

calmodulina (CaM) e conseqüentemente contração (GARRET; GRISHAM, 1995); (2) aumento do influxo de Ca^{2+} através da abertura dos Caves tipo L por um mecanismo que não envolve mudança no V_m ; (3) liberação do Ca^{2+} induzida por Ca^{2+} através de receptores de rianodina (sensíveis à cafeína) presentes na membrana do R.S. e (4) aumento do Ca^{2+} por ativação do trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ reverso (JACKSON, 2000).

Com relação ao relaxamento muscular, o mecanismo eletromecânico envolvido é a hiperpolarização da membrana. Este mecanismo pode ser desencadeado por diversos eventos, entre eles podem ser citados a liberação do fator relaxante derivado do endotélio (óxido nítrico), que ativa diretamente a ciclase de guanilil solúvel; e a estimulação de receptores acoplados diretamente uma ciclase de guanilil ou de adenilil. Em qualquer um destes eventos o resultado é a formação de segundos mensageiros tais como o monofosfato de guanosina cíclico (GMPc) ou monofosfato de adenosina cíclico (AMPc), respectivamente. Por sua vez, o aumento nas concentrações intracelulares destes segundos mensageiros ativa as proteínas cinase G (PKG) e A (PKA), o que resulta na abertura de canais de K^+ da membrana plasmática e conseqüentemente, hiperpolarização (KOMALAVILAS; LINCOLN, 1996).

A hiperpolarização reduz o influxo de Ca^{2+} através dos Caves tipo L, diminuindo portanto a $[\text{Ca}^{2+}]_i$, a fosforilação da miosina e conseqüentemente a contração. Os aumentos na $[\text{Ca}^{2+}]_i$ também inibem a atividade da quinase de cadeia leve de miosina (MLCK) por ativar uma proteína cinase II dependente de $(\text{Ca}^{2+})_4$ -calmodulina (CaM), que fosforila a MLCK, diminuindo a sensibilidade desta última à $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (REMBOLD, 1996). A sensibilização dos elementos contráteis ao Ca^{2+} mantém a tensão no músculo liso vascular através de várias vias de transdução de sinais. O Na_3VO_4 , por exemplo, atua inibindo a fosforilação da proteína tirosina induzindo contrações mediadas por esta via, sendo desta forma, utilizado experimentalmente para avaliar o relaxamento modulado por fosforilação da proteína tirosina (YU et al., 2004).

Já os mecanismos que levam a uma resposta relaxante através do acoplamento fármaco-mecânicos incluem: (1) aumento na atividade da Ca^{2+} -ATPase

(bomba de Ca^{2+}) tanto da membrana do R.S. como da membrana plasmática através da PKG, levando a um aumento do seqüestro e da extrusão de Ca^{2+} , respectivamente, diminuindo assim a $[\text{Ca}^{2+}]_i$; (2) diminuição da formação do IP_3 e conseqüente diminuição da liberação de Ca^{2+} dos estoques intracelulares; (3) redução da $[\text{Ca}^{2+}]_i$ pelo AMPc por diminuir o influxo de Ca^{2+} , indiretamente por hiperpolarização ou por agir diretamente nos Cavs tipo L; e finalmente (4) diminuição da $[\text{Ca}^{2+}]_i$ por estimulação do trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (JACKSON, 2000).

ÓLEOS ESSENCIAIS

O uso de espécies vegetais, com fins de tratamento e cura de doenças e sintomas, remota ao início da civilização, desde o momento em que o homem começou um longo percurso de manuseio, adaptação e modificação dos recursos naturais para o seu próprio benefício. Esta prática milenar, atividade humana por excelência, ultrapassou todas as barreiras e obstáculos durante o processo evolutivo e chegou até os dias atuais, sendo amplamente utilizada por grande parte da população mundial como fonte de recurso terapêutico eficaz (MACIEL, et al., 2002).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que cerca de 80% da população mundial utiliza, preferencialmente, a medicina tradicional nos cuidados primários da saúde, sendo que a maior parte das terapias tradicionais envolve o uso de plantas *in natura* ou produtos manufaturados a partir de seus extratos ou princípios ativos (WHO, 1991). Além disto, a OMS recomenda o uso de plantas medicinais pelos sistemas públicos de saúde como forma de baixar os custos dos programas de saúde pública e ampliar o número de beneficiários destes programas, principalmente nos países em desenvolvimento onde persiste a pobreza (BRAJTBURG et al., 1990).

Assim, as plantas têm sido um grande atrativo nos últimos tempos, contribuindo com benefícios à saúde como também, fonte material para o desenvolvimento de novas drogas. Produtos derivados de plantas medicinais são utilizados no tratamento de uma variedade de doenças (LEE et al, 2001). No entanto, uma base mais racional para o uso de espécies vegetais como medicamento foi lançada

somente quando estas espécies começaram a ser estudadas de forma sistemática com o objetivo de extrair, isolar e identificar as substâncias cujas propriedades farmacológicas são, em última análise, responsáveis pelas propriedades curativas atribuídas à planta como um todo (ELIZABETSKY, 1986).

Desta forma, os óleos essenciais são substâncias voláteis extraídas de plantas aromáticas, constituindo matérias-primas de grande importância para as indústrias cosmética, farmacêutica e alimentícia. Eles podem estar presentes em diversos órgãos da planta, difundido pelas partes aéreas, nas flores, nas folhas, no lenho, nas raízes e nas sementes (CARDOSO *et al.*, 2000).

Entre as principais ações farmacológicas sugeridas em diversos estudos disponíveis na literatura para os óleos essenciais estão os efeitos: miorrelaxante, principalmente em músculo liso, hipotensor, antimicrobiano, antiespasmódico, antidepressivo, antiinflamatório, depressor do trânsito intestinal, ansiolítico e anticonvulsivante (LEAL CARDOSO e FONTELES, 1999).

Nas plantas, os óleos essenciais apresentam-se em misturas de compostos em diferentes proporções, tendo, normalmente um composto majoritário. A grande maioria, no entanto, é constituído de derivados fenilpropanóides ou de terpenóides, preponderando os últimos. Os terpenóides constituem uma grande variedade de substâncias vegetais, sendo esse termo empregado para designar todas as substâncias cuja origem biossintética deriva de unidades do isopreno. Os compostos terpênicos mais freqüentes nos óleos essenciais são os monoterpenos, contribuindo com 90 % dos óleos (CARDOSO *et al.*, 2000).

Os terpenos representam uma classe de produtos naturais amplamente distribuída no reino vegetal, sendo uma família de compostos quimicamente diversos (DI STASI, 1994). Possuem uma composição molecular típica, formados por duas ou mais unidades isoprênicas ($C_{10}H_{15}$) (NABETA *et al.*, 1995).

Esses compostos representam a segunda classe com maior número de constituintes ativos obtidos de plantas, perdendo apenas para os flavonóides. São

classificados de acordo com as unidades de carbonos e as formas de ciclização e estão subdivididos em monoterpenos (10 unidades carbonos), sesquiterpenos (15 unidades carbonos), diterpenos (20 unidades carbonos), sesterpenos (25 unidades carbonos), triterpenos (30 unidades carbonos) e tetraterpenos (40 unidades carbonos) (DI STASI, 1994).

Muitos terpenos também possuem um interesse comercial, incluindo importantes atividades farmacológicas, por exemplo, atividade antitumoral (MUJOO *et al.*, 2001), antinociceptiva (VENÂNCIO *et al.*, 2011), sedativa (SUGAWARA, *et al.*, 1998), antiinflamatória (QUINTANS-JÚNIOR *et al.*, 211), analgésica (MALHEIROS *et al.*, 2001), cardioprotetora (TORRES *et al.*, 2000), antioxidante (ITO *et al.*, 2005), antialérgica (KUBO *et al.*, 1987) e antihipertensiva (SANTOS *et al.*, 2007).

Um exemplo de monoterpeno é o Geraniol (Fig. 1), que é conhecido também como Lemonol, beta-Geraniol, Geranyl alcohol, (E) Geraniol, (E) Nerol, trans-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol, apresenta como nome químico (E)-3,7-dimethyl-2,6-octadien-1-ol e sua fórmula química $C_{10}H_{18}O$. É um monoterpeno álcool acíclico e o principal aromático, quantitativamente e sensorialmente (VAUDANO *et al.*, 2004) de várias plantas.

Alguns estudos verificaram os principais efeitos do geraniol, demonstrando ser um repelente eficaz (BARNARD e XUE, 2004), possui potencial como agente antimicrobiano (BARD *et al.*, 1988) e um de seus principais efeitos farmacológicos é a importante atividade anti-tumoral (CARNESECCHI *et al.*, 2002).

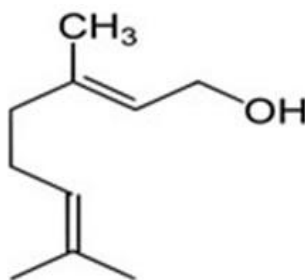


Figura 1: Estrutura química do geranio

CICLODEXTRINA

As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos, amplamente utilizados como adjuvantes farmacêuticos. São obtidos a partir da degradação do amido pela ação da enzima ciclodextrinaglicosiltransferase (CGTase) produzida pelo microorganismo *Bacillus macerans*. As CDs obtidas com maior rendimento são comumente conhecidas como CDs naturais e contém seis, sete ou oito unidades de glicose, sendo denominadas de α -ciclodextrina (α CD), β -ciclodextrina (β CD) e γ -ciclodextrina (γ CD), respectivamente (SÁ BARRETO e CUNHA-FILHO, 2008).

Estas moléculas são conhecidas desde finais do século XIX, tendo sido primeiramente identificadas por Villiers, em 1891. Contudo, no início do século XX, foi Frank Schardinger que caracterizou este produto como sendo mistura de oligossacarídeos cíclicos, tendo também descrito processos para a sua obtenção e purificação, razão pela qual as ciclodextrinas também são conhecidas na literatura por dextrinas de Schardinger, além de outras denominações (SALTÃO e VEIGA 2001).

As características de inclusão das ciclodextrinas naturais podem ser alteradas pela introdução de substituintes nas hidroxilas disponíveis. A dimetil- β -ciclodextrina normalmente apresenta melhores características de inclusão, especialmente no que diz respeito à dimensão da cavidade apolar, do que a β -ciclodextrina. O uso de derivados lipofílicos (etilados ou acetilados) permite que moléculas hidrofílicas possam ser incluídas na cavidade das ciclodextrinas a partir de solventes menos polares do que o interior da cavidade. Se atendermos à ciclodextrina natural mais usada (β -ciclodextrina), o elevado número de grupos hidroxila que possui (sete primários e quatorze secundários) são potenciais pontos de reação, que permitem produzir modificações estruturais funcionalizando o anel macrocíclico. Surge, assim, grande variedade de estruturas adaptadas ao desenvolvimento de novos sistemas terapêuticos (SALTÃO e VEIGA 2001).

Para formar o ciclo, as moléculas de glicose unem-se por ligações α -1-4. Sendo assim, não podem ser degradadas pelas enzimas intestinais e são

absorvidas, minimamente, quando administradas por via oral (MARRETO et al., 2008).

A formação de complexos de inclusão de óleos essenciais tem sido aplicada para proteger os óleos essenciais frente à temperatura, oxidação, degradação pela luz, evaporação e umidade. Neste processo, cada constituinte volátil ou conjunto de substâncias são hospedadas na cavidade da CD (MARQUES, 2010). Além disso, a inclusão em CDs permite a dispersão de óleos essenciais líquidos em meio aquoso e permite o controle de sua volatilidade (MARRETO et al., 2008).

A estrutura cilíndrica desses polissacarídeos, com as hidroxilas voltadas para o exterior da molécula, confere à estrutura um caráter hidrofílico. A cavidade central é delineada por um esqueleto de carbonos e oxigênios etéreos, que lhes conferem um caráter lipofílico. Assim, as CDs têm a habilidade de abrigar moléculas pouco solúveis em água, no interior da cavidade central, incrementando a hidrossolubilidade de diversas substâncias, sejam sólidas, líquidas ou gasosas. A inclusão na CD é um fenômeno estequiométrico molecular, em que, geralmente, uma molécula hóspede interage com a cavidade da CD (FRANCO et al., 2009).

Uma propriedade interessante das CDs está relacionada com a sua capacidade de promover a liberação de fármacos em membranas biológicas, agindo como verdadeiros carreadores, pois, este efeito pode ocasionar o aumento da disponibilidade do fármaco na superfície dessas barreiras biológicas (pele e mucosa, por exemplo) e a promoção de sua permeação (CUNHA-FILHO e SÁ-BARRETO, 2007).

O uso de ciclodextrina apresenta vantagens nas mais diversas áreas. Na indústria de alimentos sua principal aplicação é no encapsulamento de flavor, enquanto que na indústria de cosméticos e farmacêutica, os complexos formados com ciclodextrinas têm como objetivo melhorar a estabilidade, a solubilidade e a absorção de substâncias ativas. Este macrocíclico tem aplicação significativa também na catálise química e na química analítica, em técnicas espectroscópicas e cromatográficas (MARQUES, 2010).

CAPÍTULO 3

RESULTADOS

3.1 Cardiovascular effects of monoterpenes: a review

ANEXO EM PDF

3.2 Vasorelaxant effect of the geraniol, a monoterpene alcohol, in rat artery

Original Article

**VASORELAXANT EFFECT OF THE GERANIOL, A MONOTERPENE
ALCOHOL, IN RAT ARTERY**

Fraga BP1, Cunha PS1, Moreira FV1, Bonjardim LR1, Araujo AAS1, Nunes RS1, Marchioro M1, Ribeiro EAN2, Santos MRV1

1Department of Physiology, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão/SE, 2Escola de Enfermagem e Farmácia / UFAL

Running title: Vasorelaxant effect of geraniol

*** Author for Correspondence**

Dr. Márcio Roberto V. Santos - Department of Physiology, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão - SE, 49100-000, Brazil, Phone: (+55) 79 2105-6842 FAX: (+55) 79 2105-6474. E-mail: marcio@infonet.com.br.

SUMMARY

1. Geraniol is a monoterpene found in various herbs with activity on the cardiovascular system. The objective of the present study was to evaluate the vasorelaxant effect induced by geraniol in rat mesenteric artery.
2. Male Wistar rats (200 – 300g) were euthanized and superior mesenteric artery was removed and cut in rings, which were mounted in organ baths containing 10 mL of Tyrode's solution at 37°C and gassed with carbogen. For isometric tension recordings, each ring was fixed in a force transducer connected to an acquisition system.
3. In rat mesenteric artery rings with functional endothelium pre-contracted with phenylephrine (10 μ M), geraniol (10^{-8} – 10^{-2} M) was able to induce relaxation ($E_{\max} = 110 \pm 5\%$; n = 6) which was not attenuated after removal of endothelium ($E_{\max} = 108 \pm 6\%$; n = 6) or after tetraethylammonium (1 mM), a non-selective blocker of K^{+} channels ($E_{\max} = 109 \pm 3\%$; n = 6).
4. In endothelium-denuded rings pre-contracted with KCl 80 mM, geraniol produced a relaxation ($E_{\max} = 142 \pm 14\%$; n = 6) that was significantly ($p < 0.05$) higher than those obtained in rings with functional endothelium pre-contracted with phenylephrine.
5. Furthermore, the incubation with 3×10^{-4} or 10^{-3} M of geraniol antagonized the tonic contractions induced by $CaCl_2$ (10^{-7} – 3×10^{-2} M) and phasic contractions induced by phenylephrine in without calcium solution.
6. In conclusion, geraniol produces vasorelaxation by inhibiting the Ca^{2+} influx and Ca^{2+} release through phenylephrine sensitive intracellular Ca^{2+} stores and, this effect, is endothelium-independent.

Key words: geraniol, vasorelaxant effect, rat mesenteric artery.

INTRODUCTION

Essential oils are volatile substances extracted from medicinal plants and their therapeutic potential have been largely studied in animals ¹ and humans ^{2,3}. Among the beneficial properties of essential oils have been demonstrated in the cardiovascular system such as: antithrombotic, antiplatelet, endothelial protective, vasorelaxant, hypotensive, bradycardic activities ⁴ and as improvement in coronary flow ⁵.

Geraniol, chemical name (E)-3,7-dimethyl-2,6-octadien-1-ol, is an acyclic monoterpene alcohol and the main aromatic sensuously and quantitatively ⁶, found in the essential oils extracted of several aromatic medicinal plants, such as the *Cymbopogon winterianus* L. (Capim-citronela) ⁷ and *Rosa hybrida* (Rosa) ⁸. In previous study, it was demonstrated that essential oil extracted of *Cymbopogon winterianus* was able to induce significant hypotension and vasorelaxant effects⁹.

Pharmacological effects to geraniol were already reported, among them antiinflammatory ¹⁰, antispasmodic, sedative, hypnotic ¹¹, antitumor ^{12,13} and vasorelaxation in thoracic aorta¹⁴.

Thus, the objective of this work was to evaluate the vascular effect of geraniol in rat mesenteric artery, an artery of resistance, where your muscle tone change significantly influences the HR and MAP and elucidate its action of mechanism.

METHODS

Animals

Male Wistar normotensive rats (200 – 300 g) were obtained from colonies maintained in the Department of Physiology, Federal University of Sergipe, Sergipe, Brazil. They were maintained in a large cage under controlled conditions of temperature and lighting (lights on: 06:00 - 18:00h), fed with rodent diet and tap water *ad libitum*. All procedures were approved

by the Animal Research Ethics Committee of the Universidade Federal de Sergipe, Brazil (Protocol number 35/2010) and were in compliance with the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals published by the US National Institutes of Health (NIH publication 85-23, revised 1996).

Drugs

The drugs used were: geraniol (purity: 98%) (Fig. 1), L-phenylephrine chloride (Phe), acetylcholine chloride (Ach), tetraethylammonium (TEA) and caffeine (CAF) (all from SIGMA). In the preparation of the stock solutions, the geraniol was diluted in saline/cremophor solution (0.1% v/v). All stock solutions were maintained at 0°C and diluted to the desired concentration with distilled water when necessary.

Solutions

The composition of the normal Tyrode's solution was (mM): NaCl 158.3, KCl 4.0, CaCl₂ 2.0, NaHCO₃ 10.0, C₆H₁₂O₆ 5.6, MgCl₂ 1.05 and NaH₂PO₄ 0.42. The K⁺-depolarizing solutions (KCl 80 or 60 mM) were done by replacing 80 or 60 mM KCl in the Tyrode's solution with equimolar NaCl. In nominally without Ca²⁺ solution, CaCl₂ was omitted.

Tissue preparation

Rats were euthanized by exsanguination under anesthesia and the superior mesenteric artery was removed, cleaned from connective and fat tissues and sectioned in rings (1 – 2 mm). These rings were suspended with cotton threads in organ baths containing 10 mL of Tyrode's solution, gassed with carbogen and maintained at 37°C under a resting tension of 0.75 g for 60 min (stabilization period). The isometric tension was recorded by a force transducer (Letica, Model TRI210, Barcelona, Spain) coupled to an amplifier-recorder

(AECAD 0804, AVS, São Paulo – SP, Brasil). When necessary, endothelium was removed with a fine steel wire and its functionality was assessed by the ability of Ach (10 μ M) to induced more than 75% relaxation tonus of Phe (10 μ M). The absence of the relaxation for Ach was taken as evidence that the rings were functionally denuded of endothelium.

Characterization of geraniol effect on vascular reactivity in the rat isolated superior mesenteric artery

After verification of the presence of functional endothelium, intact rings were pre-contracted again with Phe (10 mM) and in the tonic phase of contraction, concentrations of geraniol were cumulatively added ($10^{-8} - 10^{-2}$ M) to bath to obtain a concentration-response curve control (n = 6). The control concentration-response curve for this experimental condition (n = 6) was compared with the vehicle.

Assessment of the role of vascular endothelial responses induced geraniol

After verification of the absence of functional endothelium, the rings without functional endothelium were pre-contracted with Phe (10 mM) and in the tonic phase of contraction, increasing concentrations of geraniol ($10^{-8} - 10^{-2}$ M) were cumulatively added to bath. The concentration-response curve for this experimental condition (n = 6) was compared with the control condition.

Evaluation of the involvement of Ca^{2+} channels in the responses induced by geraniol

A possible effect of geraniol on Ca^{2+} channels was investigated through concentration-response curves for geraniol ($10^{-8} - 10^{-2}$ M) in rings without endothelium in the presence of high concentrations of potassium. In this experimental protocol, the normal Tyrode's solution

was replaced by K^+ depolarizing Tyrode's solution with 80 mM of KCl (KCl 80) and the preparations ($n = 6$) remain in this solution until the end of the experiment.

Furthermore, it was evaluated the effect of geraniol on contractions induced by $CaCl_2$. Concentration-response curves were obtained to $CaCl_2$ ($10^{-7} - 3 \times 10^{-2}$ M) in rings without endothelium maintained in Tyrode solution with 60 mM KCl (KCl 60) nominally without Ca^{2+} before and after the pre-incubation with geraniol (10^{-3} , 3×10^{-4} or 10^{-4} M). The results were expressed as percentages of the maximal response to $CaCl_2$ alone and the curves obtained in the presence of geraniol were compared with that obtained to $CaCl_2$ alone.

Evaluation of the contribution of K^+ channels in the responses induced by geraniol

A possible effect of geraniol on K^+ channels was investigated through concentration-response curves for geraniol ($10^{-8} - 10^{-2}$ M) in rings without endothelium incubated with 1 mM of TEA, which, at this concentration, is a non-selective K^+ channels blocker¹⁵. The concentration-response curve for this experimental condition ($n = 6$) was compared to that of rings without functional endothelium.

Effect of geraniol on Phe- and CAF-induced contractions in Ca^{2+} -free solution

The effect of geraniol on Phe- or CAF- sensitive calcium intracellular stores was assessed by using a protocol described by Sakata and Karaki (1991)¹⁶. The transient contractions ($n = 6$) were obtained in denuded-endothelium rings by 10 μ M Phe or 20 mM CAF in Ca^{2+} -free solution before and after incubation with geraniol (from $10^{-4} - 3 \times 10^{-4} - 10^{-3}$ M) for 20 min. The results were expressed as percentages of the response induced by Phe or CAF alone.

Statistic analysis

Values were expressed as mean \pm SEM. The results were analyzed with one or two-way ANOVA followed by Bonferroni post-test. The pD_2 values were obtained by non-linear regression. All procedures were performed by using Graph Pad Prism 3.02TM.

RESULTS

Effect of geraniol on Phe or KCl tonus in rings with, and without endothelium, or after TEA incubation.

In rings of rat mesenteric artery with functional endothelium (Control) pre-contracted with 10 μ M of Phe, geraniol induced relaxations ($E_{max} = 110 \pm 5 \%$; $n = 6$) that were not changed after removal of endothelium ($E_{max} = 108 \pm 6 \%$; $n = 4$). In rings without functional endothelium and pre-contracted with KCl 80 mM, geraniol was able to induce relaxation ($E_{max} = 142 \pm 14 \%$; $n = 6$) that was significantly ($p < 0.05$) higher of those obtained in rings without functional endothelium and pre-contracted with Phe (10 μ M). Furthermore, TEA (1 mM) was not able to change geraniol -induced relaxation ($E_{max} = 109,2 \pm 3\%$; $n = 6$) in rings without endothelium pre-contracted with Phe ($E_{max} = 108,0 \pm 6 \%$; $n = 4$) (Fig. 2A, 2B e 2C).

Effect of geraniol on $CaCl_2$ contractions in endothelium-denuded rings

The incubation of rings with 10^{-4} and 3×10^{-4} and 10^{-3} M of geraniol was capable of antagonize the contractions induced by $CaCl_2$ ($10^{-7} - 3 \cdot 10^{-2}$) (Fig. 3).

Effect of geraniol on Phe- and CAF-induced contractions in Ca^{2+} -free solution

In mesenteric rings under Ca^{2+} -free solution, geraniol inhibited transient contractions induced by 10 μ M Phe, but not inhibited by 20 mM CAF (Fig. 4).

DISCUSSION

In Brazil, many patients drink daily tea of aromatic medicinal plants, such as *Cymbopogon winterianus*, used in the folk medicine for hypertension treatment. This plant containing 40.06% of geraniol and previous studies performed in our laboratory demonstrated that its essential oil causes hypotension and vasorelaxation in rats ⁷. In addition, another study showed that geraniol causes endothelium-independent vasorelaxation in rat aorta ¹⁴.

In this study, it was showed that geraniol was able to induce relaxation of rat mesenteric artery with intact endothelium in a concentration-dependent manner. These relaxant effects were not different of those obtained in the endothelium-denuded rings, suggesting that endothelial factors, such as NO or PGI₂, does not contribute to the relaxant effect induced by geraniol.

It is reported in the literature that the concentration external K⁺ (KCl 80 mM) induced smooth muscle contraction through the activation of calcium channels, voltage operated (VOCCs) and consequently release of calcium from the sarcoplasmic reticulum. The contractions induced by high K⁺ concentrations are inhibited by blocking Ca²⁺ channels or by removal of Ca²⁺ in the external environment and are thus completely dependent on Ca²⁺ influx ¹⁷.

Therefore, in isolated rings of rat mesenteric artery without functional endothelium, but pre-contracted with depolarizing Tyrode solution (KCl 80 mM), geraniol was able to induce relaxation significantly higher than those obtained without rings functional endothelium and pre-contracted with Phe, suggesting a possible role of Ca²⁺ - channels in this response.

In order to strengthen the hypothesis above, we constructed concentration-response curves to CaCl₂ in a calcium-free medium before and after incubation with geraniol. In this

condition, the CaCl_2 was able to induce concentration-dependent contraction of rings without functional endothelium were strongly inhibited by geraniol.

In according to the literature, potassium channels are the dominant ion conductive pathways in vascular muscle cells. As such, their activity importantly contributes to determination and regulation of membrane potential and vascular tone. The electrochemical gradient for K^+ ions is such that opening of K^+ channels results in diffusion of this cation out of the cells and membrane hyperpolarization. This effect closes Ca^{2+} channels and leads to vasodilatation¹⁸.

Thus, to rule out the involvement of K^+ channels in the vasorelaxant effect induced by geraniol in isolated rings of rat superior mesenteric artery without functional endothelium, were pre-contracted with 10 μM Phe in the presence of 1 mM TEA, which in the concentration used in this study is a non-selective blocker for these channels. Then, geraniol was able to induce relaxation that were not significantly different from those obtained in without endothelium rings pre-contracted with Phe. These results suggest that the vasorelaxant effect induced geraniol does not appear to involve the participation of K^+ channels.

Though geraniol appears be acting through of the decreasing of calcium influx, other pathways can not be discarded, as for example inhibition of calcium release from calcium intracellular stores. The activation of phosphoinositide turnover in response to receptor activation, as alpha-adrenoceptors by phe, is crucial to the cytoplasmatic calcium increase through calcium release of the intracellular stores and consequently contraction. Phe induces a rapid e transient increase in IP_3 formation in vascular smooth muscle, which release calcium of the IP_3 -sensitive calcium intracellular stores¹⁹. Furthermore, calcium intracellular store CAF/ryanodine-sensitive can to be activated by caffeine, which activates the ryanodine receptor and leads also to intracellular Ca^{2+} - release²⁰.

In order to investigate the involvement of these stores in the vasorelaxant response induced by geraniol, we performed experiments in that the rings were contracted by phe or CAF, in Ca^{2+} -free solution, in the absence and presence of geraniol. Under this condition, geraniol inhibited transient contractions induced by Phe, but not by CAF, suggesting that the geraniol appears only to be interfering in the calcium mobilization of IP_3 -sensitive intracellular stores.

It is known that other monoterpenes presented similar effect geraniol. Bastos *et al.* (2009)²¹ showed that citronellol reduce blood pressure by a direct effect on the vascular smooth muscle leading to vasodilation. Lahlou *et al.* (2002)²² revealed that terpinen-4-ol, the main monoterpene constituent of *Alpinia zerumbet* essential oil, promoted hypotension that can be attributed to a direct vasorelaxant action. Aydin *et al.* (2007)²³ published that carvacrol, a monoterpene constituent of many essential oils, present hypotensive and vasorelaxant action, possibly due to block of vascular L-type calcium channels. Lahlou *et al.* (2001)²⁴ and Guedes *et al.* (2004)²⁵ demonstrated that rotundifolone, a monoterpene isolated from *Mentha x villosa* essential oil, presented hypotensive action through decrease of peripheral vascular resistance caused by vasorelaxation. Lahlou *et al.* (2002)²² demonstrated that this effect was caused by inhibition of voltage-dependent Ca^{2+} channels and intracellular Ca^{2+} release.

In conclusion, our results demonstrate that geraniol produces a vasorelaxation by a endothelium-independent mechanism in the rat mesenteric artery. This effect appears to be due to an inhibition of the Ca^{2+} influx through voltage-operated Ca^{2+} channels associated to an inhibition of the Ca^{2+} release through intracellular Ca^{2+} stores sensitive to phenylephrine.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by CNPq, CAPES, and FAPITEC/SE, Brazil.

REFERENCES

1. De Sousa DP, Gonçalves JCR, Quintans-Júnior *et al.* Study of anticonvulsant effect of citronellol, a monoterpene alcohol, in rodents. *Neurosci. Lett.* 2006; **401**: 231-235.
2. Paduch R, Kandefer-Szerszeń M, Trytek M *et al.* Terpenes: substances useful in human healthcare. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 2007; **55**:1–13.
3. Dayawansa S, Umeno K, Takakura H *et al.* Autonomic responses during inhalation of natural fragrance of Cedrol in humans. *Auton. Neurosci.* 2003; **108**:79–86.
4. Santos MRV, Moreira FV, Fraga BP *et al.* Cardiovascular effects of monoterpenes: a review. *Braz. J. Pharmacogn.* 2011; **21**: 764-771.
5. Shiina Y, Funabashi N, Lee K *et al.* Relaxation effects of lavender aromatherapy improve coronary flow velocity reserve in healthy men evaluated by transthoracic Doppler echocardiography. *Int. J. Cardiol.* 2008; **129**:193–197.
6. Vaudano E, Moruno EG, Di Stefano R. Modulation of geraniol metabolism during alcohol fermentation. *J. Inst. Brew.* 2004; **110**:213-219.
7. Menezes IAC, Moreira IJA, Paula JWA *et al.* Cardiovascular effects induced by *Cymbopogon winterianus* essential oil in rats: involvement of calcium channels and vagal pathway. *J Pharm Pharmacol.* 2010; **62**:1-7.
8. Rao BRR, Sastry KP, Saleem SM *et al.* Volatile flower oils of three genotypes of rose-scented geranium (*Pelargonium* sp.). *Flavour Fragr. J.* 2000; **15**:105-107.
9. Menezes IAC, Moreira IJA, Carvalho AA *et al.* Cardiovascular effects of the aqueous extract from *Caesalpinia ferrea*: Involvement of ATP-sensitive potassium channels. *Vasc. Pharmacol.* 2007; **47**:41–47.

10. Maruyama N, Ishibashi H, Morofuji S *et al.* Suppression of carrageenan- and collagen II-induced inflammation in mice by geranium oil. *Mediators Inflamm.* 2006; **3**:625-637.
11. Adesina S. Studies on some plants used as anticonvulsants in Amerindian and African traditional medicine. *Fitoterapia* 1982; **53**:147-162.
12. Burke YD, Stark MJ, Roach SL *et al.* Inhibition of pancreatic cancer growth by the dietary isoprenoids farnesol and geraniol. *Lipids* 1997; **32**:151–156.
13. Carnesecchi S, Schineider Y, Ceraline J *et al.* Geraniol, a component of plant essential oils, inhibits growth and polyamine biosynthesis in human colon cancer cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2001; **298**:197-200.
14. Azarmi Y, Mohammdi A, Babaei H. Role of endothelium on relaxant effect of geraniol in isolated rat aorta. *J. Pharmaceut. Sci.* 2009; **14**:311-319.
15. Cook NS. Effect of some potassium channel blockers on contractile responses of the rabbit aorta. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1989; **13**:299–306.
16. Sakata K, Karaki H. Effects of a novel smooth muscle relaxant, KT –362, on contraction on cytosolic Ca^{2+} level in the rat aorta. *Br J Pharmacol.* 1991;**102**:174–178.
17. Karaki H, Weiss GB. Calcium release in smooth muscle. *Life Sciences* 1998; **42**: 111-122.
18. Jackson WF. Ion channels and vascular tone. *Hypertens.* 2000; **35**: 173-178.
19. Somlyo AV, Bond M, Somlyo AP *et al.* Inositol trisphosphate-induced calcium release and contraction in vascular smooth muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1985; **82**: 5231-5235.
20. Missiaen L, Parys JB, De Smedt H *et al.* Inhibition of inositol trisphosphate-induced calcium release by caffeine is prevented by ATP. *Biochem J.* 1994; **300**: 81-84.
21. Bastos JF, Moreira IJ, Ribeiro TP *et al.* Hypotensive and Vasorelaxant Effects of Citronellol, a Monoterpene Alcohol, in Rats. *Basic. Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2009; **106**:331–337.

22. Lahlou S, Galindo CA, Leal-Cardoso JH *et al.* Cardiovascular effects of the essential oil of *Alpinia zerumbet* leaves and its main constituent, Terpinen-4-ol, in rats: role of the autonomic nervous system. *Planta Med.* 2002; **68**:1097–1102.
23. Aydin Y, Kutlay O, Ari S *et al.* Hypotensive effects of carvacrol on the blood pressure of normotensive rats. *Planta Med.* 2007; **73**:1365–1371.
24. Lahlou S, Carneiro-Leao RF, Leal-Cardoso JH, Toscano CF. Cardiovascular effects of the essential oil of *Mentha x villosa* and its main constituent, piperitenone oxide, in normotensive anaesthetised rats: role of the autonomic nervous system. *Planta Med.* 2001;**67**:638–643.
25. Guedes DN, Silva DF, Barbosa-Filho JM, Medeiros IA. Calcium antagonism and the vasorelaxation of the rat aorta induced by rotundifolone. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2004; **37**:1881–1887.

LEGENDS FOR FIGURES

Fig. 1: Chemical structure of geraniol (FW:154,25)

Fig. 2. Concentration-response curves for vehicle or geraniol (10^{-8} – 10^{-2} M) in isolated rings of rat superior mesenteric artery in the conditions: **(A)** - With (Control) and without functional endothelium, pre-contracted with 10 μ M of Phe; **(B)** - without functional endothelium pre-contracted with Phe (10 μ M) or KCL 80 mM; and **(C)** - without endothelium pre-contracted with Phe before and after TEA (1 mM). All values are expressed as mean \pm SEM of 6 experiments. Data were analysed with one-way ANOVA followed by Bonferroni post-test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, and *** $P < 0.001$ vs control.

Fig. 3: Concentration-response curves for CaCl_2 (10^{-7} – 3×10^{-2} M) before (control) and after the incubation of the preparations with geraniol (10^{-4} , 3×10^{-4} , and 10^{-3} M) in rings of rat mesenteric artery without endothelium. Values are expressed as mean \pm SEM of 6 experiments. The data were analysed with repeated measures two-way ANOVA followed by Bonferroni post-test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, and *** $P < 0.001$ vs control.

Fig. 4: Effect of the geraniol (10^{-4} , 3×10^{-4} M, and 10^{-3} M) on transient contractions induced by 10 μM phenylephrine (Phe) (**A**) or 20 mM of caffeine (CAF) (**B**) in Ca^{2+} -free Tyrode's solution in isolated rat mesenteric rings without the endothelium. Values are expressed as mean \pm SEM of 6 experiments. The data were analysed with repeated measures two-way ANOVA followed by Bonferroni post-test. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ vs Control.

Fig. 1

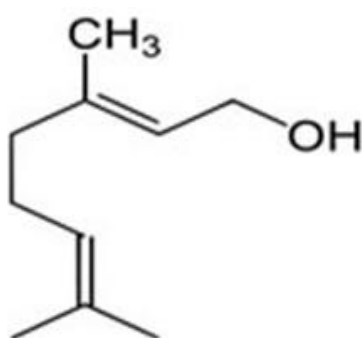


Fig. 2

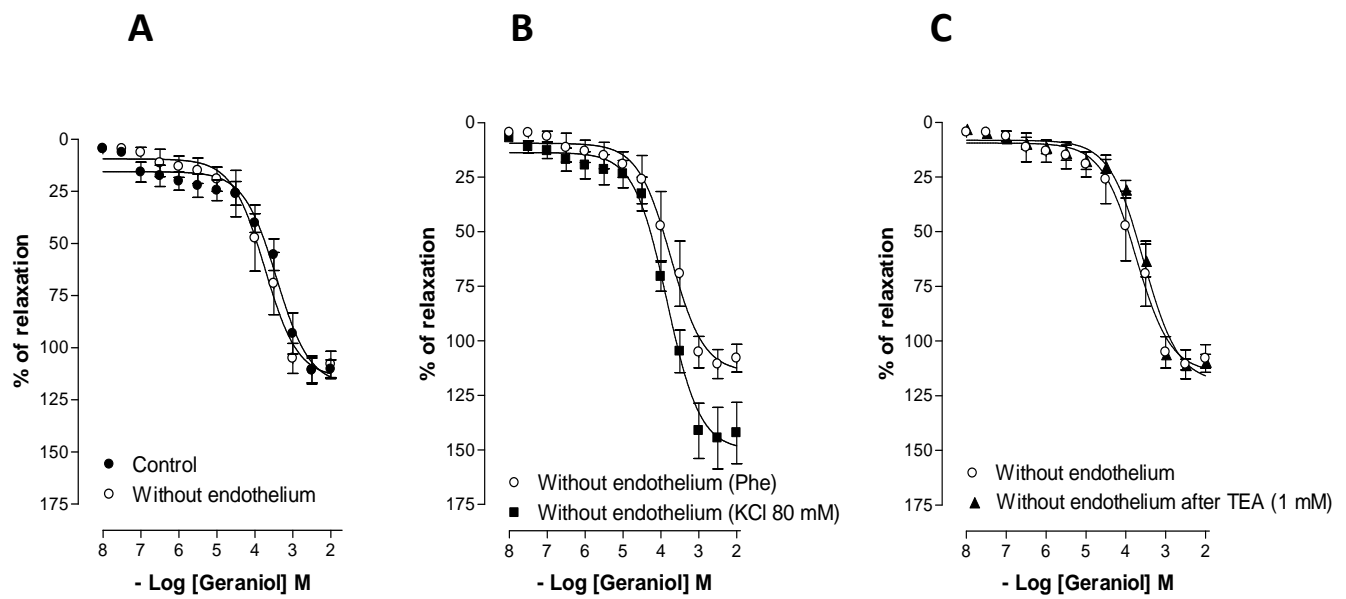


Fig. 3

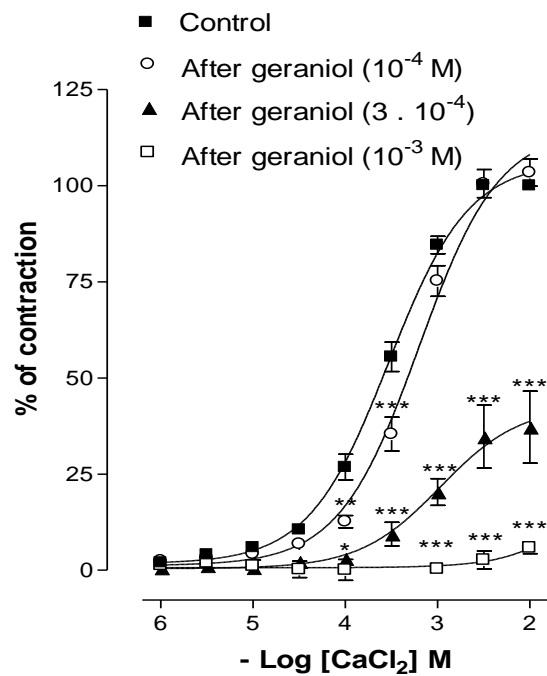
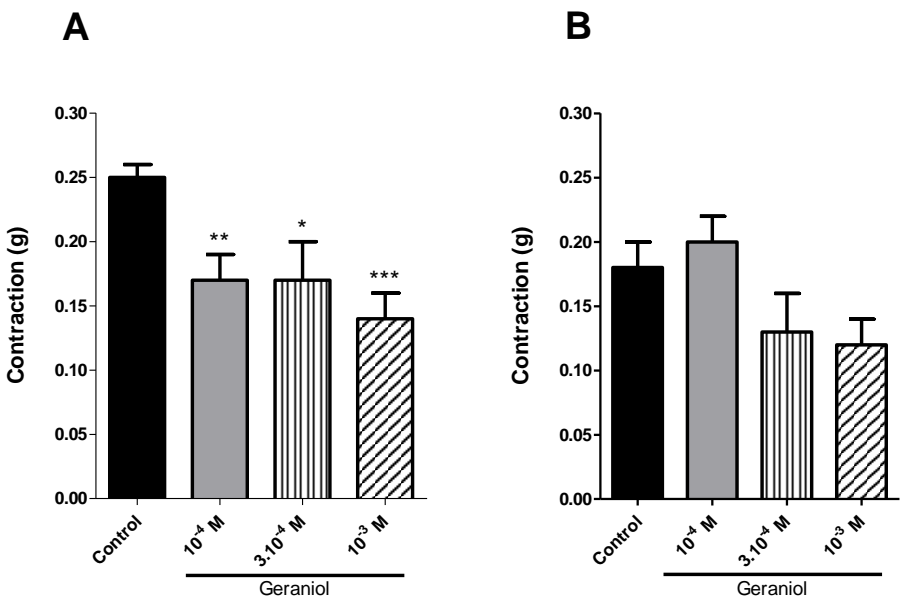


Fig. 4



3.3 Solid-state β -cyclodextrin complexes containing geraniol

ANEXO EM PDF

3.4 Efeitos do complexo geraniol + β - ciclodextrina em ratos hipertensos

EFEITOS DO COMPLEXO GERANIOL + β - CICLODEXTRINA EM RATOS HIPERTENSOS

INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais para o tratamento de doenças, como as cardiovasculares, vem crescendo consideravelmente nos últimos anos em todo o mundo (CIRIGLIANO; SUN, 1998). Nesse contexto, os óleos essenciais e seus potenciais terapêuticos têm sido largamente estudados em animais (SANTOS, et. al, 2011).

O geraniol é um monoterpeno álcool acíclico e o principal aromático, quantitativamente e sensorialmente, encontrado em diversas plantas, como o *Cymbopogon winterianus* (Capim-citronela) (MENEZES et al., 2010). Alguns estudos já verificaram os principais efeitos do geraniol como: repelente eficaz (BARNARD e XUE, 2004), agente antimicrobiano (BARD et al., 1988) e uma importante atividade antitumoral (CARNESECCHI et al., 2002).

Embora o geraniol esteja presente como constituinte de plantas utilizadas para hipertensão, não foi encontrado na literatura nenhum estudo relacionado a atividade anti-hipertensiva. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial anti-hipertensivo terapêutico do geraniol complexado com β – ciclodextrina, pois a formação deste complexo permite a dispersão de óleos essenciais em meio aquoso e, quando administrados por via oral, são absorvidas e não podem ser degradadas pelas enzimas intestinais (MARRETO et al., 2008), assim o objetivo de complexar é melhorar a estabilidade, a solubilidade e a absorção das substâncias ativas (MARQUES, 2010).

MATERIAL E MÉTODOS

Drogas

Geraniol, (E)-3,7-dimethyl-2,6-octadien-1-ol, ($C_{10}H_{18}O$) (pureza: 98%), foi comercialmente obtido da SIGMA CHEMICAL CO (St Louis, MO, USA), tiopental sódico (Cristália), heparina (Roche), cremofor, NG-nitro-Larginine methyl ester (L-NAME) (Sigma), nifedipina (NIF) (Sigma) e BCD (Sigma Lote 127K0753). Geraniol foi diluído em salina/cremofor (0.1 % v/v) e diluído em solução salina ou água destilada nas concentrações desejadas minutos antes dos testes farmacológicos. A complexação foi realizada por co-evaporação por meio da adição de água + BCD + geraniol na razão molar 1:1. Após agitação magnética em 400 rpm, por 36 horas, a mistura foi seca em dessecador com pressão reduzida.

Animais

Foram utilizados ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus*) (Figura 1) pesando entre 200 e 300 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe (UFS), mantidos sob condições controladas de temperatura ($25 \pm 1^{\circ}C$) e ciclo claro-escuro de 12 horas (6 - 18 horas), tendo livre acesso à alimentação e água. Todos os procedimentos descritos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UFS (CEPA/UFS), sob o número de protocolo 35/2010, e estavam de acordo com o Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório publicado pelo US National Institutes of Health (NIH publicação 85-23, revisado em 1996).



Figura 1: Rato Wistar (Fonte: Luana Maynard, 2011)

Ensaaios Farmacológicos

A hipertensão foi induzida pelo método descrito por Biancardi et al. (2007). Ratos normotensos receberam L-NAME na dose de 20mg/kg administrados oralmente por gavagem durante 7 dias. No último dia, foi feita a constatação da hipertensão (PA média > 140mmHg) por meio de medidas indiretas de PA e FC através de um medidor de pressão caudal não-invasivo (LETICA, LE5002, Barcelona, Espanha).

É bem relatado na literatura que a anestesia produz vários efeitos sobre o sistema cardiovascular, alterando os principais sistemas de regulação da Pressão Arterial (PA) (FLUCKINGER et al., 1985; DORWARD et al., 1985). Para minimizar a influência da anestesia e do estresse cirúrgico nos parâmetros cardiovasculares durante os ensaios farmacológicos, os animais foram mantidos sob anestesia somente durante o procedimento cirúrgico de implantação de cateteres, descrito a seguir.

Neste procedimento, realizado no oitavo dia, ratos hipertensos foram anestesiados com tiopental sódico (45 mg/kg, i.p.), e cateteres de polietileno (PE), um segmento de PE-10 (diâmetro interno e externo de 0,28 e 0,61 mm, respectivamente), soldado a um segmento de PE-50 (diâmetro interno e externo de 0,58 e 0,96 mm, respectivamente), preenchidos com solução salina heparinizada (1:20 v/v), foram implantados, através de incisão inguinal, na aorta abdominal via artéria femoral esquerda. Após a inserção e fixação, o cateter foi tunelizado subcutaneamente e exteriorizado através de uma incisão na região cervical posterior do animal (*scapulae*). As incisões foram suturadas e os animais colocados em caixas individuais, onde permaneceram por um período mínimo de 24 h (recuperação pós-operatória).

Após este período, a PAM foi medida pela conexão do cateter arterial a um transdutor de pressão (Edwards Lifescience, Irvine, CA, EUA) pré-calibrado acoplado a um amplificador (Modelo BD-01, BioData, João Pessoa, PB, Brasil) e conectado a um micro-computador equipado com placa conversora analógico-digital (ChartTM Pro, ADInstruments, Bella Vista, NSW, Australia) e com software

(PowerLab, ADInstruments, Bella Vista, NSW, Australia) (figura 2).



Figura 2: Sistema de aquisição de dados de PA e FC em ratos.

(Fonte: Luana Maynard, 2011)

Nesta fase do estudo, os animais foram divididos em 4 grupos com 4 animais cada: um grupo controle (GHC) tratados com solução salina, um grupo hipertenso tratado com nifedipina (GHN), uma droga de referência, na concentração de 10 mg/kg (WANG *et al.*, 2005) e dois grupos hipertensos tratados com geraniol + β CD nas doses de 50mg/Kg (GH50) e 100 mg/Kg (GH100). Todos os tratamentos foram feitos por gavagem (v.o.) em dose única e se iniciaram às 8h da manhã. Para a avaliação dos efeitos agudos, foram feitas medidas de PA nos tempos 0; 0,5; 1; 2; 3; 4; 8; 24h após o tratamento.

ANÁLISE ESTÁTISTICA

Os valores foram expressos como a média \pm erro padrão da média (e.p.m.). Os resultados foram analisados por ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. Para estas análises foi utilizado o programa estatístico GraphPad Prism versão 3.02™.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento dos animais com L-NAME (20 mg/Kg – 7 dias; por gavagem) foi capaz de elevar a PAM significativamente de $120,2 \pm 6$ para $172,8 \pm 9$ mmHg.

A hipertensão por L-NAME ocorre devido a vários fatores como: inibição da produção de óxido nítrico (RIBEIRO et al., 1992), aumento do tônus simpático (SANDER et al, 1997), aumento da atividade do sistema renina – angiotensina (RIBEIRO et al., 1992; JOVER et al., 1993) e aumento da resistência vascular (RUIZ - MARCOS et al., 2001).

Como observado na Figura 3A, o tratamento com nifedipina, como esperado, foi capaz de reduzir a PAM dos animais hipertensos em até $32,5 \pm 2,5\%$ quando comparado com a PAM dos animais tratados apenas com o veículo, este efeito durou ao menos 4 horas. Em estudo realizado por Andrade et al. (2012), verificou-se que ratos tratados com nifedipina foi capaz de reduzir significativamente a PAM nos tempos 0.5 e 1 h após a administração por via oral.

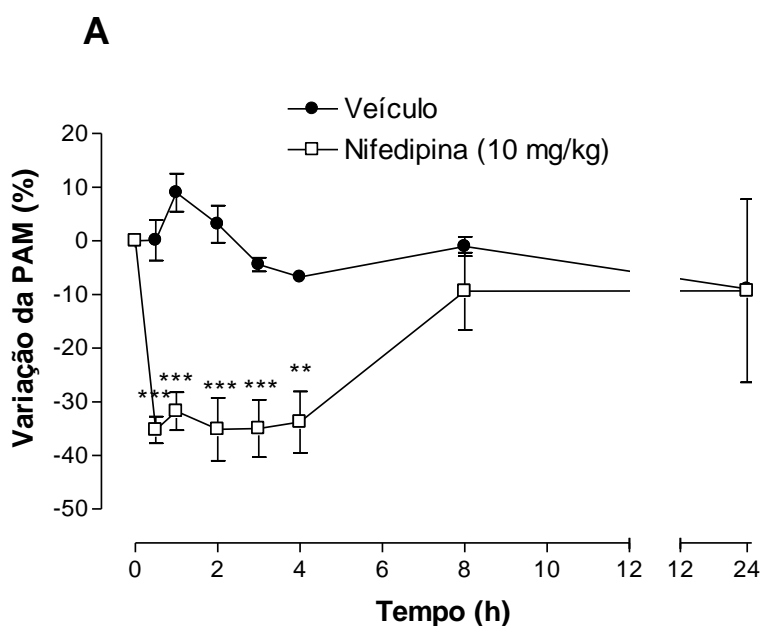


Figura 3A. Variação da PAM (pressão arterial média) em ratos hipertensos induzidos por L-NAME antes (tempo 0) e após 0.5, 1, 2, 3, 4, 8 e 24 h da administração de salina (veículo) e nifedipina por via oral. Os valores estão expressos como média \pm e.p.m. de 4 experimentos (ANOVA de duas vias seguida do pós - teste de Bonferroni).

É relatado na literatura que bloqueadores de canais de cálcio (também chamados comumente de antagonistas de cálcio) têm exercido um importante papel no tratamento da hipertensão. Todos os antagonistas de cálcio disponíveis são eficazes no tratamento de hipertensão, diferindo nas suas ações hemodinâmicas e

farmacológicas (LUBSEN et al., 2005). A nifedipina, um bloqueador dos canais de cálcio tipo L, leva primariamente ao relaxamento do músculo liso, no qual se observa uma redução de até 20% da pressão arterial sistólica, diastólica e média nos pacientes hipertensos, não ocasionando mudanças importantes sobre a pressão arterial em pacientes normotensos (BROWN et al., 2000).

Desta forma, diversos estudos tem sido realizados em humanos com o uso da nifedipina, no qual demonstram redução da pressão arterial com eficácia e segurança sugerindo, assim, ser adequado seu uso no tratamento da hipertensão, reduzindo, então, a morbidade e mortalidade por doenças cardiovasculares (BOZZA et al., 1984; DONDICI FILHO et al., 1991; MANCIA et al., 2003).

Como observada na Figura 3B, o geraniol + BCD foi capaz de reduzir significativamente a PAM dos ratos hipertensos apenas na dose de 50 mg/kg e no tempo de 2h após a sua administração. Enquanto que os ratos hipertensos tratados com 100 mg/kg não apresentaram diferença significativa em nenhum dos tempos testados. Efeitos de redução da PAM em ratos hipertensos induzidos por monoterpenos foram também observados por Andrade et al. (2012) onde demonstraram que o citronelal na dose de 200 mg/kg foi capaz de reduzir significativamente a PAM nos tempos 1, 2, 3 e 4 h após a administração por via oral.

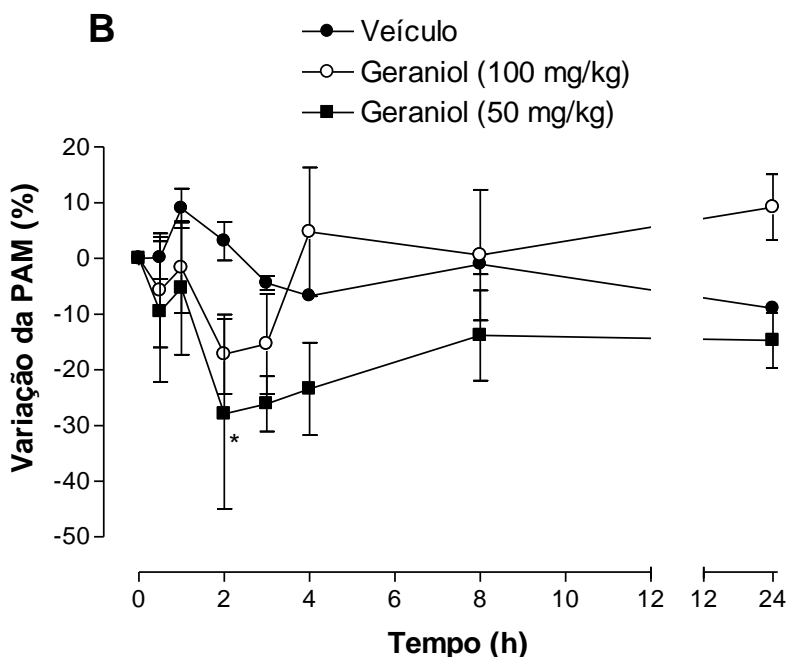


Figura 3B. Variação da PAM (pressão arterial média) em ratos hipertensos induzidos por L-NAME antes (tempo 0) e após 0,5, 1, 2, 3, 4, 8 e 24 h da administração de salina (veículo) e geraniol + β CD (50 e 100 mg/kg) pela via oral. Os valores estão expressos como média \pm e.p.m. de 4 experimentos (ANOVA de duas vias seguida do pós - teste de Bonferroni).

Não foi encontrado na literatura nenhum estudo que justifique a falta de efeito na dose de 100 mg/kg do geraniol, possivelmente essa dose esta muito alta para o geraniol e em doses altas pode apresentar algum efeito hipertensor intrínseco.

CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que o geraniol, através da via oral, tem potencial terapêutico anti-hipertensivo. No entanto, mais estudos são necessários para avaliar a dose correta, bem como a duração do efeito hipotensor, para assim ser usada com segurança.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, F.C.; MOTA, M.M.; BARRETO, A.S.; SOUSA, D.P.; QUINTANS-JUNIOR, L.J.; SANTOS, M.R.V. Antihypertensive Therapeutic Potential of Citronellal **Lat Am J Pharm.** v. 31, n. 5, p. 767-771, 2012.

BARD, M.; ALBRECHT, M.R.; GUPTA, N.; GUYNN, C.J.; STILLWELL, W. Geraniol interferes with membrane functions in strains of *Candida* and *Saccharomyces*. **Lipids**, v. 23, p. 534–538, 1988.

BARNARD, D.R.; XUE, R. Laboratory evaluation of mosquito repellents against *Aedes albopictus*, *Culex nigripalpus*, and *Ochlerotatus triseriatus* (Diptera: Culicidae). **J Med Entomol**, v. 41, p. 726–730, 2004.

BIANCARDI, V. C.; BERGAMASCHI, C. T.; LOPES, O. U.; CAMPOS, R. R. Sympathetic activation in rats with L-NAME-induced hypertension. **Braz J Med Biol Res.** v. 40, n. 3, p. 401-408, 2007.

BOZZA, A.E.; GUIMARAES, F.J.; CARVALHO, F.J.; SANTOS, L.C.; PELLON, F.M.; CASTRO, R.F.; BALBUENA, R.R. Comparative double-blind, randomized crossover study controlled with placebo, of the efficacy of nifedipine retard in patients refractory to basic antihypertensive therapy. **Arq Bras Cardiol.** v. 43, n. 3, p. 213-217, 1984.

BROWN, M.J.; PALMER, C.R.; CASTAIGNE, AL. Morbidity and mortality in patients randomized to double-blind treatment with long-acting calcium-channel blocker or diuretic in the International Nifedipine GITS study: Intervention as a Goal in Hypertension Treatment (INSIGHT). **Lancet.** v. 356, p. 366-372, 2000.

CARNESECCHI, S.; BRADAIA, A.; FISCHER, B.; COELHO, D.; SCHÖLLER-GUINARD, M.; GOSSE, F.; RAUL, F. Perturbation by Geraniol of Cell Membrane Permeability and Signal Transduction Pathways in Human Colon Cancer Cells. **JPET**, v. 303, p. 711–715, 2002.

CIRIGLIANO M, SUN A. Advising patients about herbal therapies. **JAMA.** v. 280, n. 18, p.1565-1566, 1998.

DONDICI FILHO, J.; GOMES, J.C.; DE CASTRO, E.G.; LUZ, N.S.T.; ABZAID, A. Acute reduction of blood pressure: comparative study between nifedipine and clonidine. **Arq Bras Cardiol.** v. 56, n. 2, p.127-130, 1991.

DORWARD, P. K.; RIEDEL, W.; BURKE, S. L.; GIPPS, J.; KORNER, P. I. The renal sympathetic baroreflex in the rabbit. Arterial and cardiac baroreceptor influences, resetting, and effects of anesthesia. **Circ Res.** v. 57, p. 618-633, 1985.

JOVER, B.; HERIZI, A.; VENTRE, F.; DUPONT, M.; MIMRAN, A. Sodium and angiotensin in hypertension induced by long-term nitric oxide blockade. **Hypertension.** v. 21, 944–948. 1993.

LUBSEN, J.; WAGENER, G.; KIRWAN, B.A.; DE BROUWER, S.; POOLE-WILSON, P.A.; ACTION (A Coronary disease Trial Investigating Outcome with Nifedipine GITS) investigators. Effect of long-acting nifedipine on mortality and cardiovascular

morbidity in patients with symptomatic stable angina and hypertension: the ACTION trial. **Hypertension**. v. 23, n. 3, p. 641–648; 2005.

MANCIA, G.; BROWN, M.; CASTAIGNE, A.; DE LEEUW, P.; PALMER, C.R.; ROSENTHAL, T.; WAGENER, G.; RUILOPE, L.M. Outcomes With Nifedipine GITS or Co-Amilozide in Hypertensive Diabetics and Nondiabetics in Intervention as a Goal in Hypertension (INSIGHT). **Hypertension**. v. 41, p. 431-436, 2003.

MARQUES, H.M.C. A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. **Flavour Fragr J**. v. 25, p.313–326, 2010.

MARRETO , RN.; ALMEIDA, E.E.C.V.; ALVES, P.B.; NICULAU, E.S.; NUNES, R.S.; MATOS, C.R.S.; ARAÚJO, A.A.S. Thermal analysis and gas chromatography coupled mass spectrometry analyses of hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex containing Lippia gracilis essential oil. **Thermochim Acta**, v. 475, p. 53–58, 2008.

MENEZES, I.A.C.; MOREIRA, I.J.A.; PAULA, J.W.A.; BLANK, A.F.; ANTONIOLLI, A.R.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J.; SANTOS, M.R.V. Cardiovascular effects induced by Cymbopogon winterianus essential oil in rats: involvement of calcium channels and vagal pathway. **J Pharm Pharmacol**. v. 62, p. 1–7, 2010.

RIBEIRO, M.O.; ANTUNES, E.; DE NUCCI, G.; LOVISOLO, S.M.; ZATZ, R. Chronic Inhibition Of Nitric Oxide Synthesis. A New Model of Arterial Hypertension. **Hypertension**. v. 20, p. 298–303, 1992.

RUIZ-MARCOS, F.M.; ORTIZ, M.C.; FORTEPIANI, L.A.; NADAL, F.J.A.; ATUCHA, N.M., GARCIA-ESTAN, J. Mechanisms of the increased pressor response to vasopressors in the mesenteric bed of nitric oxide-deficient hypertensive rats. **Eur J Pharmacol**. v. 412, n. 3, p. 273–279, 2001.

SANDER, M.; HANSEN, J.; VICTOR, R.G. The sympathetic nervous system is involved in the maintenance but not initiation of the hypertension induced by N(omega)-Nitro-L-Arginine Methyl Ester. **Hypertension**. v. 31, p. 64–70, 1997.

SANTOS M.R.V., MOREIRA, F.V., FRAGA, B.P.; DE SOUSA, D.P.; BONJARDIM, L.R.; QUINTANS- JÚNIOR, L.J. Cardiovascular effects of monoterpenes: A review. **Rev Bras Farmacogn.** v. 21, p. 764- 771, 2011.

WANG, H.; LONG C.; ZHANG, Y. A. New ATP-Sensitive Potassium Channel Opener Reduces Blood Pressure and reverses Cardiovascular Remodeling in Experimental Hypertension. **JPET.** v. 312, p. 1326–1333, 2005.

3.5 Complexos de inclusão de geraniol e β -ciclodextrina, método de obtenção e atividade antihipertensiva do geraniol e seus complexos

DADOS DO(S) TITULAR(ES)

(Preencha somente se a patente for em co-titularidade com Empresas, órgãos públicos ou pessoas físicas sem vínculo com a UFS)

Nome da Instituição	CGC ou CPF
Universidade Federal de Sergipe	13.031.547.0001-04

DADOS DO(S) INVENTOR(ES)

Nome civil completo:
Adriano Antunes de Souza Araujo

Unidade:CCBS

Departamento:Fisiologia

Fone comercial: (79) 21056841

Fax: (79) 21056841

E-mail:

adriasa2001@yahoo.com.br

Identidade Nº: 4408517

Órgão expedidor: SSP-PE

Data de emissão: 19/07/1999

CPF: 83134948400

Data nascimento: 16/03/1975

Estado Civil: solteiro

Nacionalidade: brasileiro

Naturalidade: Recife

Endereço Residencial Completo: Av.: Melício Machado. Cond.: Maria Resende Machado, 4000.
Casa 08 - Lote 21

Bairro: Aruana

CEP: 49000-000

Telefone Residencial:

Celular: (79) 91924545

Vínculo com a UFS	(X) Professor	() Aluno Especialização
	() Técnico-administrativo	() Aluno Mestrado
	() Aluno Graduação	() Aluno Mestrado Profissionalizante
		() Aluno Doutorado

Participante Externo UFS	() Professor	Informe Instituição:
	() Técnico-administrativo	
	() Aluno Graduação	
	() Aluno Pós-Graduação	

% Contribuição no presente invento: 17%

Nome civil completo: André Sales Barreto		
Unidade: CCBS		Departamento: Fisiologia
Fone comercial: (79) 21056842	Fax:	E-mail: asbfisio@hotmail.com
Identidade Nº: 08459808-58	Órgão expedidor: SSP/BA	Data de emissão: 05/05/1995
CPF: 963.228.965-04	Data nascimento: 18/10/1978 Estado Civil: Casado	
Nacionalidade: Brasileira		Naturalidade: Feira de Santana/BA
Endereço Residencial Completo: Av. Murilo Dantas, n.1155, edf Bacamarteiro, apt 301.		
Bairro: Farolândia		CEP: 49032-490
Telefone Residencial: (79) 21079196		Celular: (79) 88241170
Vínculo com a UFS	<input type="checkbox"/> Professor	<input type="checkbox"/> Aluno Especialização
	<input type="checkbox"/> Técnico-administrativo	<input type="checkbox"/> Aluno Mestrado
	<input type="checkbox"/> Aluno Graduação	<input type="checkbox"/> Aluno Mestrado Profissionalizante
		<input checked="" type="checkbox"/> Aluno Doutorado
Participante Externo UFS	<input type="checkbox"/> Professor	Informe Instituição:
	<input type="checkbox"/> Técnico-administrativo	
	<input type="checkbox"/> Aluno Graduação	
	<input type="checkbox"/> Aluno Pós-Graduação	
% Contribuição no presente invento: 5%		

Nome civil completo: Byanka Porto Fraga		
Unidade: CCBS		Departamento: Fisiologia
Fone comercial:	Fax:	E-mail: byaporto@bol.com.br
Identidade Nº: 1293188-8	Órgão expedidor: SSP	Data de emissão: 11/08/1997
CPF: 985.209.115-87	Data nascimento: 21/11/1980	Estado Civil: solteira
Nacionalidade: Brasileira		Naturalidade: Sergipana
Endereço Residencial Completo: Rua: Duque de Caxias, 404		
Bairro: São José		CEP: 49015-320
Telefone Residencial:		Celular: (79)9931-7332
Vínculo com a UFS	() Professor	() Aluno Especialização
	() Técnico-administrativo	() Aluno Mestrado
	() Aluno Graduação	() Aluno Mestrado Profissionalizante
		(X) Aluno Doutorado
Participante Externo UFS	() Professor	Informe Instituição:
	() Técnico-administrativo	
	() Aluno Graduação	
	() Aluno Pós-Graduação	
% Contribuição no presente invento: 11%		

Nome civil completo:**Eurica Adélia Nogueira Ribeiro****Unidade: Centro de Ciências da Saúde****Departamento: Escola de Enfermagem e Farmácia****Fone comercial: (82) 32141153****Fax: (82) 32141154****E-mail:****euricanogueira@gmail.com****Identidade Nº: 2006034054367****Órgão expedidor: SSP/CE****Data de emissão: 26/06/2009****CPF: : 027.679.974-78****Data nascimento: 05/04/1974****Estado Civil: Solteira****Nacionalidade: Brasileira****Naturalidade: Juazeiro do Norte/CE****Endereço Residencial Completo:****Av. José Sampaio Luz, n.1137, apt 404.****Bairro: Ponta Verde****CEP: 57035-260****Telefone Residencial:****Celular: (82) 88515680****Vínculo com a UFS**☐ Professor☐ Aluno Especialização☐ Técnico-administrativo☐ Aluno Mestrado☐ Aluno Graduação☐ Aluno Mestrado

Profissionalizante

☐ Aluno Doutorado**Participante Externo UFS**☒ Professor**Informe Instituição:**☐ Técnico-administrativo**Universidade Federal de Alagoas**☐ Aluno Graduação☐ Aluno Pós-Graduação**% Contribuição no presente invento: 5%**

Nome civil completo:**Isac Almeida de Medeiros****Unidade:** Universidade Federal da Paraíba**Departamento:** Laboratório de Tecnologia Farmacêutica**Fone comercial:** 83 3216 7366**Fax:** 83 3216 7365**E-mail:** isacmed@uol.com.br**Identidade Nº:** 848.784**Órgão expedidor:** SSP/PB**Data de emissão:** 02/06/1981**CPF:** 396.664.414-20**Data nascimento:** 05/01/1965**Estado Civil:** Casado**Nacionalidade:** Brasileira**Naturalidade:** Mossoró-RN**Endereço Residencial Completo:****Avenida Hilton Souto Maior, 6701****Bairro:** Portal do Sol**CEP:** 58.046-900**Telefone Residencial:** 83 3251 1381**Celular:** 83 9305 7003

Vínculo com a UFS	() Professor	() Aluno Especialização
	() Técnico-administrativo	() Aluno Mestrado
	() Aluno Graduação	() Aluno Mestrado
		Profissionalizante
		() Aluno Doutorado

Participante Externo UFS	(X) Professor	Informe Instituição: Universidade Federal da Paraíba
	() Técnico-administrativo	
	() Aluno Graduação	
	() Aluno Pós-Graduação	

% Contribuição no presente invento: 5%

Nome civil completo: Kátia Claudiane dos Santos		
Unidade: CCBS		Departamento: Fisiologia
Fone comercial:	Fax:	E-mail: katiaclaudiane@hotmail.com
Identidade Nº: 32356226	Órgão expedidor: SSP/SE	Data de emissão: 10/10/2002
CPF: 02715358571	Data nascimento: 25/04/1987	Estado Civil: Solteira
Nacionalidade: Brasileira		Naturalidade: Ribeirópolis
Endereço Residencial Completo: Rua Antônio Pina, 132		
Bairro: Ribeirópolis		CEP: 49530000
Telefone Residencial: (79) 3449-2079		Celular: (79) 9938-6497
Vínculo com a UFS	() Professor () Técnico-administrativo (X) Aluno Graduação	() Aluno Especialização () Aluno Mestrado () Aluno Mestrado Profissionalizante () Aluno Doutorado
Participante Externo UFS	() Professor () Técnico-administrativo () Aluno Graduação () Aluno Pós-Graduação	Informe Instituição:
% Contribuição no presente invento: 5%		

Nome civil completo: Mairim Russo Serafini		
Unidade: CCBS		Departamento: Fisiologia
Fone comercial:	Fax:	E-mail: maiserafini@hotmail.com
Identidade Nº: 3060448002	Órgão expedidor: SJS/RS	Data de emissão: 14/04/2004
CPF: 008.937.850-40	Data nascimento: 11/11/1984	Estado Civil: Solteira
Nacionalidade: Brasileira		Naturalidade: Passo Fundo/RS
Endereço Residencial Completo: Rua B n.50, Bloco 2 apt 307.		
Bairro: Farolândia		CEP: 49100-000
Telefone Residencial:		Celular: (79) 88049977
Vínculo com a UFS	<input type="checkbox"/> Professor <input type="checkbox"/> Técnico-administrativo <input type="checkbox"/> Aluno Graduação	<input type="checkbox"/> Aluno Especialização <input type="checkbox"/> Aluno Mestrado <input type="checkbox"/> Aluno Mestrado Profissionalizante <input checked="" type="checkbox"/> Aluno Doutorado
Participante Externo UFS	<input type="checkbox"/> Professor <input type="checkbox"/> Técnico-administrativo <input type="checkbox"/> Aluno Graduação <input type="checkbox"/> Aluno Pós-Graduação	Informe Instituição:
% Contribuição no presente invento: 5%		

Nome civil completo: Márcio Roberto Viana Dos Santos		
Unidade: CCBS		Departamento: UFS
Fone comercial: (79) 21056842		Fax:
		E-mail: marcio@infonet.com.br
Identidade Nº: 1.069.247	Órgão expedidor: SSP/SE	Data de emissão: 17/05/2007
CPF: 695.134.655-00	Data nascimento: 08/06/1974	Estado Civil: CASADO
Nacionalidade: BRASILEIRO		Naturalidade: ARACAJU-SE
Endereço Residencial Completo: AV ADÉLIA FRANCO, 3720, EDF. ELBA, APTO 102, ARACAJU-SE		
Bairro: LUZIA		CEP: 49040-020
Telefone Residencial: (79) 30443959		Celular: (79) 88429190
Vínculo com a UFS	<input checked="" type="checkbox"/> Professor <input type="checkbox"/> Técnico-administrativo <input type="checkbox"/> Aluno Graduação	<input type="checkbox"/> Aluno Especialização <input type="checkbox"/> Aluno Mestrado <input type="checkbox"/> Aluno Mestrado Profissionalizante <input type="checkbox"/> Aluno Doutorado
Participante Externo UFS	<input type="checkbox"/> Professor <input type="checkbox"/> Técnico-administrativo <input type="checkbox"/> Aluno Graduação <input type="checkbox"/> Aluno Pós-Graduação	Informe Instituição:
% Contribuição no presente invento: 17%		

Nome civil completo: Murilo Marchioro		
Unidade: CCBS		Departamento: Fisiologia
Fone comercial: (79) 21056646	Fax: (79) 21056660	E-mail: murilomarchioro@yahoo.com.br
Identidade Nº: 3400144-1	Órgão expedidor: SSP/SE	Data de emissão: 26/06/2009
CPF: 393.854.699-91	Data nascimento: 28/02/60	Estado Civil: Casado
Nacionalidade: Brasileiro		Naturalidade: Curitiba/PR
Endereço Residencial Completo: Av. Adélia Franco 2403, apt 704 A		
Bairro: Grageru		CEP: 49027-010
Telefone Residencial: (79) 32175655		Celular: (79) 88265655
Vínculo com a UFS	<input checked="" type="checkbox"/> Professor <input type="checkbox"/> Técnico-administrativo <input type="checkbox"/> Aluno Graduação	<input type="checkbox"/> Aluno Especialização <input type="checkbox"/> Aluno Mestrado <input type="checkbox"/> Aluno Mestrado Profissionalizante <input type="checkbox"/> Aluno Doutorado
Participante Externo UFS	<input type="checkbox"/> Professor <input type="checkbox"/> Técnico-administrativo <input type="checkbox"/> Aluno Graduação <input type="checkbox"/> Aluno Pós-Graduação	Informe Instituição:
% Contribuição no presente invento: 10%		

Nome civil completo: Patrícia Santos Cunha		
Unidade:CCBS		Departamento:Fisiologia
Fone comercial:	Fax:	E-mail: patysantoscunha@hotmail.com
Identidade Nº: 3220554-6	Órgão expedidor: SSP	Data de emissão: 05/01/2010
CPF: 031.513.945-58	Data nascimento: 11/04/1987	Estado Civil: Solteira
Nacionalidade: Brasileira		Naturalidade: Itabaianense
Endereço Residencial Completo: Rua: Manoel Domingos Pereira , 362		
Bairro: Centro		CEP: 49500-000
Telefone Residencial: -		Celular: (79) 99151626
Vínculo com a UFS	<input type="checkbox"/> Professor <input type="checkbox"/> Técnico-administrativo <input checked="" type="checkbox"/> Aluno Graduação	<input type="checkbox"/> Aluno Especialização <input type="checkbox"/> Aluno Mestrado <input type="checkbox"/> Aluno Mestrado Profissionalizante <input type="checkbox"/> Aluno Doutorado
Participante Externo UFS	<input type="checkbox"/> Professor <input type="checkbox"/> Técnico-administrativo <input type="checkbox"/> Aluno Graduação <input type="checkbox"/> Aluno Pós-Graduação	Informe Instituição:
% Contribuição no presente invento: 5%		

Nome civil completo: Paula dos Passos Menezes		
Unidade: CCBS		Departamento: Fisiologia
Fone comercial: (79) 21056646	Fax: (79) 21056660	E-mail: paulamenezes_16@yahoo.com.br
Identidade Nº: 3.383.662-0	Órgão expedidor: SSP/SE	Data de emissão: 23/12/2005
CPF: 044.180.155-23	Data nascimento: 09/11/1991	Estado Civil: Solteira
Nacionalidade: Brasileira		Naturalidade: Itabaiana/SE
Endereço Residencial Completo: Av. Governador João Alves Filho, 497		
Bairro: Rosa Elze		CEP: 49100-000
Telefone Residencial:		Celular: (79) 99580958
Vínculo com a UFS	<input type="checkbox"/> Professor <input type="checkbox"/> Técnico-administrativo <input checked="" type="checkbox"/> Aluno Graduação	<input type="checkbox"/> Aluno Especialização <input type="checkbox"/> Aluno Mestrado <input type="checkbox"/> Aluno Mestrado Profissionalizante <input type="checkbox"/> Aluno Doutorado
Participante Externo UFS	<input type="checkbox"/> Professor <input type="checkbox"/> Técnico-administrativo <input type="checkbox"/> Aluno Graduação <input type="checkbox"/> Aluno Pós-Graduação	Informe Instituição:
% Contribuição no presente invento: 5%		

Nome civil completo:**Rogéria de Souza Nunes****Unidade:** Laboratório de Desenvolvimento **Departamento:** Fisiologia**Farmacotécnica****Fone comercial:** (79) 21056827**Fax:** (79) 21056827**E-mail:**rogeriabr@hotmail.com**Identidade Nº:** 3945938**Órgão expedidor:** SSP/PE**Data de emissão:** 12/07/1995**CPF:** 74511521468**Data nascimento:** 26/05/1972**Estado Civil:** Solteira**Nacionalidade:** Brasileira**Naturalidade:** Recife

Endereço Residencial Completo:**Rua E, n.913, Residencial Aruana Praia Mar**

Bairro: Aruana**CEP:** 49039-280

Telefone Residencial: (79) 32273036**Celular:** (79) 91382878**Vínculo com a UFS**☒ Professor☐ Técnico-administrativo☐ Aluno Graduação☐ Aluno Especialização☐ Aluno Mestrado☐ Aluno Mestrado

Profissionalizante

☐ Aluno Doutorado

Participante Externo UFS☐ Professor☐ Técnico-administrativo☐ Aluno Graduação☐ Aluno Pós-Graduação**Informe Instituição:**

% Contribuição no presente invento: 10%

INFORMAÇÕES SOBRE O INVENTO

- **TÍTULO DO INVENTO** (Utilize termos técnicos)

COMPLEXOS DE INCLUSÃO DE GERANIOL E BETA-CICLODEXTRINA, MÉTODO DE OBTENÇÃO E ATIVIDADE ANTIHIPERTENSIVA DO GERANIOL E SEUS COMPLEXOS.

- **PALAVRAS-CHAVE RELACIONADAS AO PRESENTE INVENTO:**

1.	COMPLEXOS DE INCLUSÃO	5.	
2.	BETA-CICLODEXTRINA	6.	
3.	ATIVIDADE ANTIHIPERTENSIVA	7.	
4.	GERANIOL	8.	

- **DESCREVA OBJETIVAMENTE O CAMPO DE INVENÇÃO**

(Exemplo: novo uso do equipamento, processo para tratamento de efluentes, equipamento para, etc.)

O presente pedido de patente de invenção trata de complexos de inclusão de geraniol e β -ciclodextrina, bem como o método de obtenção e a atividade antihipertensiva dos complexos de inclusão e do geraniol.

- **DESCRIÇÃO DETALHADA DO INVENTO**

(Apresente seu invento com suficiência descritiva e indique, quando for o caso, a melhor forma de execução. Dependendo da área de invenção, descreva composição, processo de preparação, posologia, forma de administração, efeitos adversos, direção do fluxo, descrição detalhada das peças, passo-a-passo do processo, etc.)

Estudos farmacológicos:

Preparação da artéria mesentérica superior isolada de rato

Os ratos foram sacrificados por dessangramento sob anestesia com éter e através de uma incisão no abdome do animal, foi retirada a artéria mesentérica superior. Anéis do primeiro segmento da artéria (1 - 2 mm) foram obtidos livres de tecido conjuntivo e adiposo, e foram mantidos em cubas contendo 10 mL de solução nutritiva de Tyrode (concentração em mM: NaCl, 158.3; KCl, 4.0; CaCl₂, 2.0; MgCl₂, 1.05; NaH₂PO₄, 0.42; NaHCO₃, 10.0 e glucose, 5.6), a 37° C e gaseificada com uma mistura carbogênica (95% de O₂ e 5% de CO₂). Os anéis foram suspensos por linhas de algodão fixadas a um transdutor de força acoplado a um sistema de aquisição (Gould, EUA) para o registro das contrações isométricas. Cada anel

foi submetido a uma tensão constante de 0,75 g por um período de no mínimo 60 min. Durante este tempo, a solução nutritiva foi trocada a cada 15 min. para prevenir a interferência de metabólitos.

Os anéis sem endotélio foram obtidos mecanicamente através do atrito entre as paredes internas do vaso com o auxílio de uma haste de aço. A presença ou ausência do endotélio funcional foi verificada pela habilidade, medida em percentagem (%), da ACh (10 μ M) em relaxar os anéis pré-contraídos com 10 μ M de FEN. Foram considerados com endotélio funcional, os anéis que apresentaram relaxamentos superiores a 75 % sobre a pré-contracção com FEN. Já os anéis com relaxamentos inferiores a 10 %, foram considerados sem endotélio funcional (FURCHGOTT e ZAWADZKI, 1980). Anéis com relaxamentos entre 10 e 75 % foram descartados.

Caracterização do efeito do geraniol sobre a reatividade vascular em artéria mesentérica superior isolada de rato

Após o período de estabilização e a verificação da presença do endotélio funcional, os anéis foram pré-contraídos com FEN (10 μ M) e sobre a fase tônica desta contracção foram adicionadas separadamente à cuba, concentrações crescentes do geraniol (10^{-8} – 10^{-2} M), para obtenção de uma curva concentração-resposta controles (n = 6).

Avaliação do papel do endotélio vascular nas respostas induzidas pelo geraniol

Após o período de estabilização e a verificação da ausência do endotélio funcional, os anéis sem o endotélio funcional foram pré-contraídos com FEN (10 μ M) e sobre a fase tônica desta contracção foram adicionadas cumulativamente à cuba concentrações crescentes do geraniol (10^{-8} – 10^{-2} M). A curva concentração-resposta para esta condição experimental (n = 6) foi comparada com a condição controle (4.3.2).

Avaliação da participação dos canais de Ca^{2+} nas respostas induzidas pelo geraniol

Um possível efeito do geraniol sobre os canais de Ca^{2+} foi investigado construindo curvas concentração-resposta para o geraniol (10^{-8} – 10^{-2} M) em anéis sem endotélio e na presença de altas concentrações de K^{+} . Neste protocolo experimental a solução de Tyrode da cuba foi trocada pela solução despolarizante de Tyrode com KCl a 80 mM (KCl 80) e as preparações (n = 6) permaneceram nesta solução até o final do experimento.

Avaliou-se também o efeito do geraniol em contrações induzidas por CaCl_2 . Curvas concentração-resposta foram obtidas para concentrações crescentes de CaCl_2 (10^{-7} – $3 \cdot 10^{-2}$)

em anéis sem endotélio mantidos em solução de Tyrode com KCl a 60 mM (KCl 60) sem Ca^{2+} antes e depois da pré-incubação com geraniol (10^{-3} , 3×10^{-4} ou 10^{-4} M). Foram comparadas as curvas obtidas na presença e na ausência de geraniol.

Avaliação da participação dos canais de K^{+} nas respostas induzidas pelo geraniol

Um possível efeito do geraniol sobre os canais de K^{+} foi investigado construindo curvas concentração-resposta para o geraniol (10^{-8} – 10^{-2} M) em anéis sem endotélio incubados com 1 mM de TEA, um bloqueador não seletivo de canais de K^{+} (COOK, 1989). A curva concentração-resposta para esta condição experimental ($n = 6$) foi comparada com a obtida em anéis sem endotélio funcional (4.3.3).

Análise Estatística

Os valores foram expressos como a média \pm erro padrão da média (e.p.m.). Quando necessário, foram utilizados análise de variância “two-way” (ANOVA) seguida do pós-teste de Bonferroni para avaliar a significância das diferenças entre as médias. Em todos estes procedimentos foi utilizado o programa estatístico GraphPad Prism versão 3.02.

Resultados :

O geraniol foi capaz de induzir relaxamentos dependente da concentração em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato com endotélio funcional (Controle) pré-contraídos com 10 μM de FEN ($E_{\text{max}} = 110 \pm 5 \%$; $n = 6$).

Nos anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato, sem endotélio funcional, porém, pré-contraídos com solução despolarizante de Tyrode (KCl a 80 mM), o geraniol foi capaz de induzir relaxamentos ($E_{\text{max}} = 142 \pm 14 \%$; $n = 6$) que foram significativamente maiores do que aqueles obtidos em anéis sem endotélio funcional e pré-contraídos com FEN, sugerindo um possível envolvimento dos canais de Ca^{2+} nesta resposta.

Foram obtidas curvas concentração-resposta para o CaCl_2 antes e após incubação com geraniol nas concentrações 10^{-3} , 3×10^{-4} e 10^{-4} M, em meio livre de cálcio. Nesta condição, o CaCl_2 foi capaz de induzir contrações dependente de concentração em anéis sem endotélio funcional que foram fortemente inibidas após a incubação com geraniol (3×10^{-4} e 10^{-4} M.). O efeito vasorelaxante induzido pelo geraniol não parece envolver a participação de canais de K^{+} .

O geraniol produz efeito vasorrelaxante, em artéria mesentérica superior de rato, sendo este independente da participação do endotélio. Além disso, este mesmo efeito parece ser devido, em grande parte, à inibição do influxo de Ca^{2+} através de canais de cálcio sensíveis à voltagem.

Verificados os efeitos farmacológicos do geraniol, prepararam-se complexos de inclusão com o mesmo, com a finalidade de melhorar sua solubilidade.

Preparação da amostra:

Para o preparo das amostras, utilizou-se o geraniol e a β CD 98% (Sigma). Os complexos foram obtidos empregando as seguintes técnicas: 1) Mistura Física (MF): geraniol e β CD foram misturados (1:1) mecanicamente em condições ambientes; 2) Malaxagem (MA): geraniol e β CD foram misturados (1:1), adicionando-se em seguida 1,0 mL de água em almofariz com pistilo e 3) Co-evaporação (CE): geraniol e β CD foram misturados (1:1) em 20 mL de água sob constante agitação mecânica por 36 horas.

Análise Térmica: as amostras do geraniol, da β -CD e dos complexos de inclusão foram submetidas aos ensaios de TG/DTG e DSC. As curvas TG/DTG e DSC foram obtidas, respectivamente, por meio da termobalança TGA-51 e célula DSC-50, ambas da marca Shimadzu, utilizando razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Os ensaios de TG/DTG foram realizados na faixa de temperatura de $25\text{-}650^{\circ}\text{C}$, sob atmosfera dinâmica de ar comprimido ($50\text{ mL}/\text{min}$), utilizando-se cadinho de Pt contendo $\sim 15\text{ mg}$ de amostra. As curvas DSC foram obtidas entre $25\text{-}500^{\circ}\text{C}$, sob atmosfera dinâmica de N_2 ($100\text{ mL}/\text{min}$), empregando-se cápsula de Al contendo $\sim 2\text{ mg}$ de amostra.

A curva DSC do geraniol mostrou um evento endotérmico com $T_{\text{pico}}=136,2^{\circ}\text{C}$ referente à volatilização do óleo, que nas curvas TG corresponde à $\Delta m=96,0\%$ ($T=57,7\text{-}183,4^{\circ}\text{C}$). Já na curva DSC da β -CD foram verificados quatro eventos térmicos até 400°C , o primeiro referente à perda de água ($T_{\text{pico}}= 80,8^{\circ}\text{C}$), seguido de uma transição de fase ($T_{\text{pico}}= 216^{\circ}\text{C}$) e dois eventos de decomposição. As curvas TG mostraram três eventos de perda de massa referentes à desidratação e decomposição com carbonização. Nas curvas dos complexos obtidos por MF, MA e CE não foi observado o pico endotérmico referente à volatilização do geraniol. Além disso, um evento endotérmico em 269°C pode ser observado sugerindo a complexação.

Espectroscopia de Absorção na região do Infravermelho (FTIR): Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em equipamento Perkin Elmer, na faixa espectral de 4000 a 400 cm^{-1} , utilizando pastilhas de NaCl.

Os espectros FTIR do geraniol apresentam bandas em 3336, 2916, 1668, 1377 e 996 cm^{-1} , características de estiramentos das ligações O-H, -CH₃ e C=C e os deslocamentos angulares -CH₃ e C=C, respectivamente. Nos espectros dos complexos obtidos pelas três metodologias, observou-se uma sobreposição de bandas, prevalecendo àquelas referentes à β -CD, porém uma banda discreta referente ao geraniol foi observada em 1100 cm^{-1} .

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV): Os filmes foram montados em stubs de Al, revestida com uma fina camada de Au e visualizados com um microscópio eletrônico de varredura modelo JEOLJSM-6360-LV, a uma tensão de aceleração de 20 kV.

Os dados de MEV mostraram que os complexos obtidos por MA e CE apresentaram partículas menores, mais uniformes e homogeneamente distribuídas.

INFORMAÇÕES SOBRE O INVENTO (CONTINUAÇÃO)**• DETALHE A INOVAÇÃO DO PRESENTE INVENTO**

A presente invenção trata do método de preparação de complexos de inclusão de geraniol (de 0,1 a 5%) em beta-ciclodextrina, bem como de um produto farmacêutico contendo geraniol, um monoterpeno álcool isolado do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus*, com propriedades vasodilatadora e hipotensora para ser utilizada no tratamento de doenças cardiovasculares.

Apesar de muito utilizado nas indústrias farmacêutica, cosmética, alimentícia e na aromoterapia, seja isolado ou em misturas, nenhum estudo relatando a ação do geraniol, bem como seus complexos de inclusão, sobre o sistema cardiovascular foi encontrado na literatura.

• PROBLEMAS QUE O INVENTO RESOLVE OU VANTAGENS QUE APRESENTA

(Exemplo: Eficiência, Produtividade, Custo, Qualidade do produto, Redução de resíduos, etc)

A utilização de produtos naturais para o tratamento de doenças cardiovasculares, incluindo a hipertensão arterial pode trazer benefícios no que se refere ao tratamento sem, contudo causar os efeitos indesejáveis relacionados aos medicamentos sintéticos ou semi-sintéticos. O mercado farmacêutico tem interesse comercial em novas biomoléculas, principalmente com potencialidades para o tratamento de uma nova categoria de hipertensão, a hipertensão resistente.

Com relação ao processo, a indústria de cosméticos e a indústria farmacêutica utilizam a formação de complexos de ciclodextrinas com o objetivo de melhorar as características do produto final (solubilidade, estabilidade e fotoestabilidade), assim como para facilitar a absorção e liberação dos princípios farmacologicamente ativos. O encapsulamento de produtos farmacêuticos com CD, tais como nifedipirina, ciclosporina e tamazepan é realizado com grande sucesso. Estudos citam a formação de complexos de inclusão entre dimetil-beta-ciclodextrina e dexametasona em colírios, 2-hidroxipropil-beta-ciclodextrina com deidroepiandrosterona (DHEA), retinol e ácido retinóico, beta-ciclodextrina e própolis. A resistência à oxidação da vitamina D3 é notavelmente aumentada ao formar complexo com beta-ciclodextrina. O complexo vitamina D3/beta-ciclodextrina mostra grande estabilidade frente à luz em solução ácida ou neutra. Aumento de estabilidade também foi observado na complexação de beta-ciclodextrina com aspirina, nitracepam, metronidazol, certos anti-inflamatórios e antibióticos. Ainda na área farmacêutica, as ciclodextrinas atuam como veículo, aumentando a solubilidade de certos anti-inflamatórios, do fenobarbital, e da benzotiazida, o que significa maior biodisponibilidade destes princípios ativos.

Portanto, o presente invento trata de um novo produto farmacêutico a base de produto natural complexado com beta-ciclodextrina com propriedade vasodilatadora e hipotensora para ser utilizada no tratamento de doenças cardiovasculares, contendo de geraniol (de 0,1 a 5%), monoterpene álcool isolado do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus*, podendo se destacar pelas vantagens de:

- a) Ser um produto natural de grande interesse no mercado e, principalmente, da indústria farmacêutica;
- b) Não apresentar contra-indicações;
- c) Apresentar baixo custo de produção;
- d) Poder ser produzida em larga escala.

Além disso, o processo apresenta as seguintes vantagens:

- a) Solubilização de drogas apolares para o manuseio destas em formulações;
- b) Inibição de efeitos colaterais relacionadas com a toxicidade da droga, com a diminuição da rejeição pelo organismo e aumento do efeito desta;
- c) Proteção e estabilização da droga frente a reações de hidrólise e oxidação;
- d) Liberação controlada da droga, mantendo a concentração constante da mesma no organismo, aumentando o seu efeito ao longo do tempo.

• **COMPARE O PRESENTE INVENTO COM A TECNOLOGIA ATUALMENTE UTILIZADA**

(Há produtos similares no mercado? Em caso positivo, quais as vantagens desta nova tecnologia?)

Não há produtos similares no mercado contendo um produto natural como princípio ativo para tratamento de doenças cardiovasculares, principalmente a hipertensão. Contudo, a presente invenção é a primeira encontrada utilizando como princípio ativo um produto natural que foi isolado do óleo essencial de *Cymbopogon winterinus* com atividade vasodilatadora.

Os principais produtos farmacêuticos utilizados para tratamento da hipertensão arterial são sintéticos (que normalmente exigem muita tecnologia agregada e conseqüentemente oneram o produto final).

Quanto ao processo, existem numerosas publicações de patentes de invenção de complexos de inclusão, tais como a patente BR9801307-6, BR0415338-3, BR200303884-A, BR200401621-A, US20030220293-A1, US20030212043-A1, US6464988, US6071964, GB2376231-A, WO9718245,

EPO300242. Até o presente momento, não há nenhuma patente voltada para complexos de inclusão de ciclodextrinas com o agente de interesse da presente invenção, tendo assim vantagens em relação à solubilização da substância em estudo.

- **DESVANTAGENS E/OU LIMITAÇÕES DO INVENTO**

Não foi identificada, até o momento, nenhuma desvantagem ou limitação do invento.

- **USO PRESENTE E FUTURO DO INVENTO**

A presente invenção pode ser utilizada, com baixo investimento, pelas indústrias farmacêuticas e para fins de produção de medicamentos para tratamento de doenças cardiovasculares, incluindo a hipertensão arterial. Além disso, a presente invenção pode servir de base para o desenvolvimento de novas linhas terapêuticas pela indústria farmacêutica, tendo como princípio ativo produtos naturais.

- **NA SUA OPINIÃO, QUAL O ESTÁGIO DE DESENVOLVIMENTO DE SEU INVENTO COM RELAÇÃO A COMERCIALIZAÇÃO?**

- () Estado embrionário (Precisa muito trabalho para levá-lo ao mercado)
- (X) Parcialmente desenvolvido (Poderá ser levado ao mercado com um investimento razoável)
- () Desenvolvido (Pode ser levado ao mercado com um mínimo investimento)

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

- **COMO A PRESENTE INVENÇÃO DIFERE DO ATUALMENTE CONHECIDO NO ESTADO DA TÉCNICA?** (Faça um comparativo com o presente pedido de patente de invenção)

Sabe-se que a melhoria da solubilidade de fármacos, além de outras classes de compostos, tem sido bem sucedida com o uso de ciclodextrinas. As ciclodextrinas são oligossacarídeos com estrutura de anel, cujas formas mais comuns (α , β e γ) são compostas por respectivamente 6, 7 ou 8 unidades de glicopiranosose (J. Szejtli, Chemical Reviews, 1998, 98, 1743-1753). A propriedade mais importante das ciclodextrinas é a capacidade de hospedar, no interior do anel, moléculas com baixa afinidade por água e que desta forma podem ser dissolvidas em maior quantidade no meio aquoso. Esta acomodação no interior do anel, chamada de inclusão, ocorre sem a formação de ligações químicas formais, possibilitando que a molécula incluída seja liberada sob determinadas condições, conforme visto no pedido de patente BR0702737. Existem numerosas publicações de patentes de invenção de complexos de inclusão, tais como a patente BR9801307-6, BR0415338-3, BR200303884-A, BR200401621-A, US20030220293-A1, US20030212043-A1, US6464988, US6071964, GB2376231-A, WO9718245, EPO300242. Até o presente momento, não há nenhuma patente voltada para complexos de inclusão de ciclodextrinas com o agente de interesse da presente invenção, tendo assim vantagens em relação à solubilização da substância em estudo.

- **A PARTIR DA BUSCA REALIZADA, INFORME AS PATENTES ENCONTRADAS E O DIFERENCIAL EM RELAÇÃO À NOVA TECNOLOGIA ORA PROPOSTA.** (O NPI realiza busca nos bancos de patente nacional e internacionais, e encaminha aos inventores para análise.)

Várias preparações farmacêuticas, com produtos naturais como princípios ativos, já foram solicitadas patentes. Podem-se destacar as patentes abaixo:

PI0404208-5 A2, PI9903144-2 A2, PI9703946-2 A2, PI0104074-0 A2, PI9406747-3 A2, PI0802004-3 A2. Entretanto não foram encontrados produtos farmacêuticos, artigos científicos, trabalhos em congresso e/ou patentes requeridas contendo geraniol para tratamento da hipertensão.

Na verdade, a presente invenção é a primeira a utilizar o geraniol como princípio ativo para o tratamento de doenças cardiovasculares, incluindo a hipertensão.

• **DATAS DE EVENTOS NO DESENVOLVIMENTO DO INVENTO:**

EVENTO	DATA APROXIMADA
Concepção	
Croquis e Desenhos	
Primeira Descrição (relato)	
Modelo (protótipo) em operação	
Primeira Publicação	
Primeira Apresentação Oral	

	Sim	Não
1. Conhece um outro invento com característica similar?	X	
2. Houve alguma patente depositada/requerida de um invento similar	X	
3. Há pesquisa bibliográfica relacionada com o invento		X
4. Há alguma proteção de propriedade intelectual aplicada a esta invenção?		X

- Se 1 for afirmativo, indique as principais referências bibliográficas relacionadas ao presente invento, anexando, se possível, cópia.

Foram encontradas no banco de patentes algumas em que o princípio ativo é um produto natural, porém nenhuma com o geraniol utilizado para o tratamento de doenças cardiovasculares.

	Sim	Não
5. A presente invenção já foi revelada fora da Universidade?		X
6. Esteve pessoalmente envolvido em outro processo de patenteamento?	X	
7. O presente invento já foi revelado à indústria?		X
8. Foi demonstrado interesse comercial?		X

- Se 5 for afirmativo, informe detalhadamente, as circunstâncias e anexe cópia do trabalho.(Exemplo: Apresentação em conferências, publicações científicas em revistas, comunicações informais, patentes, normas)

Alertamos que a divulgação de aspectos da invenção que por ventura não tenham sido comunicados a este Núcleo podem prejudicar a expedição da carta-patente no Brasil, assim como eventuais solicitações de patenteamento no Exterior.

- Se 6 for afirmativo, informe quando, onde, e que tipo de invento:

Em 2010, na Universidade Federal de Sergipe, o Prof. Márcio Roberto Viana dos Santos e Prof. Adriano Antunes de Araújo, participaram da solicitação de pedido de patente de uma preparação farmacêutica com propriedade cicatrizante, como descrito abaixo:

Quintans Junior, L. J. ; Siqueira, R. ; ARAUJO, A. A. S. ; MELO, M. G. D. ; ALBUQUERQUE JUNIOR, R. L. C. ; BONJARDIM, L. R. ; SANTOS, M. R. V. ; DeSantana, J. M. ; NUNES, P. S. . PREPARAÇÃO FARMACÊUTICA COM PROPRIEDADE CICATRIZANTE PARA SER UTILIZADA EM FERIDAS CUTÂNEAS DE QUALQUER ESPÉCIE, CONTENDO ... Patente requerida junto ao INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. 2010.

- Se 7 for afirmativo, informe nome, contato e telefone da empresa:

INVESTIMENTOS NA PESQUISA

- Órgãos de Fomento Envolvidos (Apoio CNPq, CAPES, FAPES, etc)
CNPq
- Foi feito contrato com órgão financiador ou gerido de acordo com um *Termo de Confidencialidade*?
NÃO
- O órgão financiador foi informado do invento?
NÃO
- Suporte Interno (Fundos de Pesquisa da UFS, Unidade ou do Departamento):
NÃO

TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIA

- **COMENTE A POTENCIALIDADE DE COMERCIALIZAÇÃO DA PRESENTE INVENÇÃO.**
(Especifique áreas de aplicação e/ou produtos que imagine e possam utilizar esta nova tecnologia)

O mercado do ecobusiness, que inclui os produtos farmacêuticos provenientes de produtos naturais, na virada do milênio representava um volume de 600 bilhões de dólares e era liderado pelos Estados Unidos participando com 30%, Reino Unido, França e Alemanha juntos com 18%, Japão, Austrália e Taiwan com 16% e México e Canadá com 6%. Em 2012 esse mercado atingirá cerca de 1,8 trilhão de dólares. Calcula-se que o mercado mundial de medicamentos movimente um faturamento anual de 320 bilhões de dólares. Também se estima que 30% do volume de remédios comercializados são direta e indiretamente de origem vegetal e 10% de origem animal, mineral e de microorganismos.

No Brasil o mercado de medicamentos e cosméticos é avaliado em torno de 25 bilhões de dólares, com 25% dos produtos fabricados a partir de princípios ativos naturais. Portanto, o presente invento tem apelo comercial nos mercados nacional e internacional.

- **CITE MERCADOS OU EMPRESAS QUE PODERIAM TER INTERESSE EM CONHECER ESTA NOVA TECNOLOGIA**

Laboratórios farmacêuticos, tais como o Grupo Aché que produziu o primeiro fitoterápico genuinamente brasileiro, Pfizer, Cristália ou laboratórios nacionais como o Hebron, que tem uma extensa lista de produtos de origem natural em suas linhas de medicamentos.

Além do crescente mercado nacional, a União Européia e os Estados Unidos, como grandes consumidores de produtos naturais, são também mercados em potencial tanto para comercialização da presente invenção, bem como de novas preparações farmacêuticas com o geraniol como princípio ativo para tratamento de doenças cardiovasculares.

COMISSÃO DE ANÁLISE

Indique três profissionais externos à UFS e preferentemente ligados à indústria, para avaliar o presente pedido de patente de invenção:

Nome: Ricardo Neves Marreto

Instituição: Faculdade de Farmácia, UFG.

Fone: (62) 3209-6039 Ramal: 201/ Fax: (85) 3307-3711 **E-mail: ricardomarreto@farmacia.ufg.br**

Nome: Jackson Roberto Guedes da Silva Almeida

Instituição: Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF

Fone: 87-8805-0771 **E-mail: guedesjackson@yahoo.com.br**

Nome: Luiz Alberto Lira Soares

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Fone: 81-88973101 **E-mail: lals@gmx.de**

Declaro(amos) que todas informações acima descritas são verdadeiras.

Ciência do(s) Inventor (es):

NOME	ASSINATURA	(%) DE CONTRIBUIÇÃO NA INVENÇÃO
Adriano Antunes de Souza Araujo		17%
André Sales Barreto		5%
Byanka Porto Fraga		11%
Eurica Adélia Nogueira Ribeiro		5%
Isac Almeida de Medeiros		5%
Kátia Claudiane dos Santos		5%
Mairim Russo Serafini		5%
Márcio Roberto Viana dos Santos		17%
Murilo Marchioro		10%
Patrícia Santos Cunha		5%
Paula dos Passos Menezes		5%
Rogéria de Souza Nunes		10%

Ciência do Chefe de Departamento/Coordenador de Pós-Graduação e do Diretor da Unidade:

Carimbo

Assinatura Chefe de Departamento
ou Coordenador de Pós-Graduação

Data

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O geraniol produz efeito vasorelaxante independente de endotélio em artéria mesentérica de rato. Esse resultado é devido à inibição do influxo de Ca^{2+} através de canais de Ca^{2+} operados por voltagem, além disso, o geraniol parece estar agindo através da redução da liberação de cálcio dos estoques intracelulares sensíveis a IP_3 ;
- Ocorreu aumento significativo da PAM em ratos induzidos por L-NAME, através de gavagem por 7 dias;
- O geraniol complexado com β -ciclodextrina apresentou efeito hipotensor em ratos hipertensos na dose de 50 mg/kg, porém este efeito não apresentou longa duração, sendo apenas de 2 h. Já o grupo da nifedipina esse efeito durou por pelo menos 4 h;
- Apesar dos estudos apresentarem alguns efeitos cardiovasculares significativos, outros estudos são necessários para que possa caracterizar melhor seus efeitos cardiovasculares e colaterais, bem como a segurança no seu uso para fins terapêuticos em humanos.

ANEXOS

CEPA EM ANEXO

REFERÊNCIAS

BARD, M.; ALBRECHT, M.R.; GUPTA, N.; GUYNN, C.J.; STILLWELL, W. Geraniol interferes with membrane functions in strains of *Candida* and *Saccharomyces*. **Lipids**, v. 23, p. 534–538, 1988.

BARNARD, D.R.; XUE, R. Laboratory evaluation of mosquito repellents against *Aedes albopictus*, *Culex nigripalpus*, and *Ochlerotatus triseriatus* (Diptera: Culicidae). **J Med Entomol**, v. 41, p. 726–730, 2004.

BRAJTBURG, J.; POWDERLY, W.G.; KOBAYASHI, G.S.; MEDOFF, G. Amphotericin B: delivery systems. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 34, n. 3, p. 381-387, 1990.

BRANDÃO, M.G.L., COSENZA, G.P., MOREIRA, R.A., MONTE-MOR, R.L.M. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Rev Bras Farmacogn**, v.16, p. 408-420, 2006.

CAMPAGNOLE-SANTOS, M.J.; HAIBARA, A.S. Reflexos cardiovasculares e hipertensão arterial. **Rev Bras Hipertens**. v. 8, p. 30-40, 2001.

CARDOSO, M. G.; GAVILANES, M. L.; MARQUES, M. C. S.; SHAN, A. Y. K. V.; SANTOS, B. R.; OLIVEIRA, A. C. B.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, A. P. S. Óleos Essenciais. **Boletim Técnico – Extensão**. v. 8, n. 58, p. 1-42, 2000.

CARNESECCHI, S.; BRADAIA, A.; FISCHER, B.; COELHO, D.; SCHÖLLER-GUINARD, M.; GOSSE, F.; RAUL, F. Perturbation by Geraniol of Cell Membrane Permeability and Signal Transduction Pathways in Human Colon Cancer Cells. **JPET**, v. 303, p. 711–715, 2002.

CESARINO, C.B.; CIPULLO, J.P.; MARTIN, J.F.V.; CIORLIA, L.A.; GODOY, M.R.P.; CORDEIRO, J.A.; RODRIGUES, I.C. Prevalência e fatores

sociodemográficos em hipertensos de São José do Rio Preto. **Arq Bras Card.** v. 91, n.1, p. 31–35, 2008.

CIRIGLIANO M, SUN A. Advising patients about herbal therapies. **JAMA.** v.11, p. 1565-1566, 1998.

CUNHA-FILHO, M.S.S.; SÁ-BARRETO, L.C.L. Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.** v. 28, n.1, p.1-9, 2007.

DAHLOF, B.; DEVEREUX, R.; KJELDSEN, S. Cardiovascular morbidity and mortality in the losartan intervention or endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomized trial against atenolol. **Lancet.** v. 359, p. 995–1003, 2002.

DE FREITAS, A.; **Estrutura de mercado do segmento de fitoterápicos no contexto atual da indústria farmacêutica brasileira**, Ministério da Saúde, 2007, http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/estudo_fitoterapicos.pdf. Acesso em Fevereiro, 2013.

DI STASI, L.C.; HIRUIMA, C.C.; GUIMARAES, E.M.; SANTOS, C. M. Medicinal plants populary used in brasilian amazon. **Fitoterapia**, v. 65, n. 6, p 529-540, 1994.

ELIZABETSKY, E. New directions in ethnopharmacology. **J Etnobiol.** v. 6, p.121, 1986.

FOLKOW, B. Structure and function of the arteries in hypertension. **Am Heart J.** v. 114, p. 938-948, 1987.

FRANCO, C.; SCHWINGEL, L.; LULA, I.; SINISTERRA, R.D.; KOESTER, L.S.; BASSANI, V.L. Studies on coumestrol/beta-cyclodextrin association: Inclusion complex characterization. **Int J Pharm.** v.18, n.369, 2009.

FUGH-BERMAN, A. Herbs and dietary supplements in the prevention and treatment of cardiovascular disease. **Prev Cardiol.** v. 3, n. 1, p. 24-32, 2000.

GARRET, R. H.; GRISHAM, C. M. Muscle contraction. In: **Molecular aspects of cell biology**. Philadelphia: Saunders, p. 1156-1179, 1995.

GEBREMEDHIN, D.; FENOY, F. J.; HARDER, D. R.; ROMAN, R. J. Enhanced Vascular Tone In The Renal Vasculature Of Spontaneously Hypertensive Rats. **Hypertension**. v. 16, n. 6, p. 648-654, 1990.

GUS, I.; HARZHEIM, E.; ZASLAVSKY, C.; MEDINA, C.; GUS, M. Prevalência, reconhecimento e controle da hipertensão arterial sistêmica no Estado do Rio Grande do Sul. **Arq Bras Cardiol**. v. 83, n. 5, p. 424–428, 2004.

HAYASHI, K.; EPSTEIN, M.; SARUTA, T. Altered myogenic responsiveness of the renal microvasculature in experimental hypertension. **Hypertension**. v. 14, p. 1387–1401, 1996.

ITO, M.; MURAKAMI, K.; YOSHINO, M. Antioxidant action of eugenol compounds: role of metal ion in the inhibition of lipid peroxidation. **Food Chem Toxicol**. v. 43, p. 461-466, 2005.

JACKSON, W. F. Ion channels and vascular tone. **Hypertension**, v. 35, p. 173–178 2000.

KOMALAVILAS, P.; LINCOLN, T. M. Phosphorylation of the Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptor. Cyclic GMP-dependent protein kinase mediates cAMP and cGMP dependent phosphorylation in the intact rat aorta. **J Biol Chem**. v. 271, n. 36, p. 21933-21938, 1996.

KUBO, M.; MATSUDA, H.; TOMOHIRO, N.; YOSHIKAWA, M. Studies on alismatis rhizoma. I. anti-allergic effect of methanol extract and six terpene

components from *Alismatis rhizoma* (dried rhizome of *Alisma orientale*). **Bio Pharm Bull.** v. 20, p. 511- 516, 1987.

LEAL-CARDOSO, J. H.; FONTELES, M. C. Pharmacological effects of essential oil of plants of the Northeast of Brazil. **An Acad Bras Ci.** v. 71, n. 2, p. 207-213, 1999.

LEE, K.J.; YOU H.J.; PARK, S.J.; KIM, Y.S.; CHUNG, Y.C.; JEONG, T.C.; JEONG, H.G. Hepatoprotective effects of *Platycodon grandiflorum* on acetaminophen-induced liver damage in mice. **Cancer Lett.** v. 174, p. 73-81, 2001.

MACIEL, MAM.; PINTO, A.C.; VEIGA JR, V.F.; GRYNBERG, N.F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 03, p. 429-438, 2002.

MALHEIROS, A.; FILHO, V.C.; SCHMITT, C.B.; SANTOS, A.R.S.; SCHEIDT, C.; CALIXTO, J.B.; MANCHE, F.D.; YUMES, R.A. A sesquiterpene drimane with antinociceptive activity from *Drimys winteri* bark. **Phytochemistry**. v. 257, p. 103-107, 2001.

MARQUES, H.M.C. A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. **Flavour Fragr J.** v. 25, p.313–326, 2010.

MARRETO, RN.; ALMEIDA, E.E.C.V.; ALVES, P.B.; NICULAU, E.S.; NUNES, R.S.; MATOS, C.R.S.; ARAÚJO, A.A.S. Thermal analysis and gas chromatography coupled mass spectrometry analyses of hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex containing *Lippia gracilis* essential oil. **Thermochim Acta**, v. 475, p. 53–58, 2008.

MENEZES, I.A.C.; MOREIRA, I.J.A.; PAULA, J.W.A.; BLANK, A.F.; ANTONIOLLI, A.R.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J.; SANTOS, M.R.V. Cardiovascular effects induced by *Cymbopogon winterianus* essential oil in rats:

involvement of calcium channels and vagal pathway. **J Pharm Pharmacol**, v. 62, p. 1–7, 2010.

MUJOO, K.; HARIDAS, V.; HOFFMANN, J.J.; WACHTER, G.A.; HUTTER, L.K.; LU, Y.; BLAKE, M.E; JAYATILAKE, G.S; BAILEY, D.; MILLS, G.B.; GUTTERMAN, J.U. Triterpenoid saponins from *Acacia victoriae* (Bentham) decrease tumor cell proliferation and induce apoptosis. **Cancer Res**. v. 61, p. 5486-5490, 2001.

NABETA, K.; ISHIKAWA, T.; OKUYAMA, H. Sesqui- and di-terpene biosynthesis from C-13 labelled acetate and mevalonate in cultured cells of *Heteroscyphus planus*. **J Chem Soc Perkin Trans**. v. 1, n. 24, p. 3111-3115, 1995.

NEAL, B.; MACMAHON, S.; CHAPMAN, N. Blood Pressure Lowering Trialist's Collaboration. Effects of ACE inhibitors, calcium antagonists and other blood-pressure-lowering drugs: results of prospectively designed overviews of randomized trials. **Lancet**. v. 356, p. 1955–1964, 2000.

NORDMANN, A.J.; WOO, K.; PARKES, R.; LOGAN, A.G. Ballon angioplasty or medical therapy for hypertensive patients with atherosclerotic renal artery stenosis? A meta-analysis of randomized controlled trials. **Am J Med**. v. 114: 44–50, 2003.

PEREIRA, M.; LUNET,N.; AZEVEDO, A.; BARROS, H. Differences in prevalence, awareness, treatment and control of hypertension between developing and developed countries. **Hypertension**. v. 27, n.5, p. 963–975, 2009.

PODYMOW, T.; AUGUST, P.; UMANS, J.G. Antihypertensive therapy in pregnancy.**Semin Nephrol**. v. 24, p. 616–625, 2004.

QUINTANS-JUNIOR, L.J.; GUIMARÃES, A.G.; DE SANTANA, M.T.; ARAUJO, B.E.S.; MOREIRA, F.V.; BONJARDIM, L.R.; ARAUJO, A.A.S.; SIQUEIRA, J.S.; ANTONIOLLI, A.R.; BOTELHO, M.A.; ALMEIDA, J.R.G.S.; SANTOS, M.R.V. Citral reduces nociceptive and inflammatory response in rodents. **Rev Bras Farmacogn**. v. 21, n.3, p. 497- 502, 2011.

REMBOLD, C.M. Electromechanical and pharmacomechanical coupling. In: Bárány, M. **Biochem Smooth Muscle Contract**. San Diego: Academic Press, p. 227-239, 1996.

ROSÁRIO, T.M.; SCALA, L.C.N.S.; FRANÇA, G.V.A.; PEREIRA, M.R.G.; JARDIM, P.C.B.V. Prevalência, controle e tratamento da hipertensão arterial sistêmica em Nobres, MT. **Arq Bras Card**. v. 93, n. 6, p. 672-678, 2009.

SÁ-BARRETO, L.C.L.; CUNHA-FILHO, M.S.S. Ciclodextrina: Importante Excipiente Farmacêutico Funcional. **Lat Am J Pharm**. v. 27, n. 4, p. 629-636, 2008.

SALTÃO, R.; VEIGA, F. Ciclodextrinas em novos sistemas terapêuticos. **Braz J Pharm Sci**. v. 37, n. 1, 2001.

SAMY, R. P.; THWIN, M. M.; GOPALAKRISHNAKONE, P.; IGNACIMUTHU, S. Ethnobotanical survey of folk plants for the treatment of snakebites in Southern part of Tamilnadu, India. **J Ethnopharmacol**. v.17, n. 115, p. 302-312, 2008.

SANTOS, M.R.V.; CARVALHO, A.A.; MEDEIROS, I.A.; ALVES, P.B.; MARCHIORO, M.; ANTONIOLLI, A.R. Cardiovascular effects of *Hyptis fruticosa* essential oil in rats. **Fitoterapia**, v. 78, p. 186–191, 2007.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. **Rev Bras Farmacol**, v.12, n.1, p. 35-40, 2002.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial, **Arq Bras Cardiol** v. 95, p.1-51, 2010.

SOMLYO, A. P.; SOMLYO, A.V. Signal transduction and regulation in smooth muscle. **Nature**. v. **372**, p. 231-236, 1994.

SONKUSARE, S.; PALADE, P. T.; MARSH, J. D.; TELEMAQUE, S.; PESIC, A.; RUSCH, N. J. Vascular calcium channels and high blood pressure. **Vascul Pharmacol**. v. 44, p.131 – 142, 2006.

SUGAWARA, Y.; HARA, C.; TAMURA, K.; FUJII, T.; NAKAMURA, K.; MASUJIMA, T.; AOKI, T. Sedative effect on humans of inhalation of essential oil of linalool: Sensory evaluation and physiological measurements using optically active linalools. **Anal Chim Acta**. v. 365, p. 293-299, 1998.

TAKESHITA, A.; MARK, A.L. Decreased venous distensibility in borderline hypertension. **Hypertension**, v. 1, p. 202-206, 1979.

TORRES, L.M.; GAMBERINI, M.T.; ROQUE, N.F.; LIMA-LANDMAN, M.T.; SOUCCAR, C.; LAPA, A.J. Diterpene from *Baccharis trimera* with a relaxant effect on rat vascular smooth muscle. **Phytochemistry**. v. 55, n. 6, p. 617-619, 2000.

VAUDANO, E.; MORUNO, E. G.; DI STEFANO, R. Modulation of Geraniol Metabolism During Alcohol Fermentation. **J Inst Brew**. v. 110, n. 3, p. 213–219, 2004.

VENÂNCIO, A.M.; ONOFRE, A.S.C.; LIRA, A.F.; ALVES, P.B.; BLANK, A.F.; ANTONIOLLI, A.R.; MARCHIORO, M.; ESTEVAM, C.S.; ARAUJO, B.S.; Chemical composition, acute toxicity and antinociceptive activity of the essential oil of a plant breeding cultivar of basil (*Ocimum basilicum* L.). **Planta Med**. v. 77, p. 825-829, 2011.

VORA, C. K.; MANSOOR, G. A. Herbs and alternative therapies: relevance to hypertension and cardiovascular diseases. **Curr Hypertens Rep.** v. 7, n. 4, p. 275-280, 2005.

WATSON, P.S.; HADJIPETROU, P.; COX, S.V.; PIEMONTE, T.C.; EISENHAUER, A.C. Effect of renal artery stenting on renal function and size in patients with atherosclerotic renovascular disease. **Circulation.** v. 102, p. 1671–1677, 2000.

WHO. **Guidelines for the Assessment of Herbal Medicines**, World Health Organization, Geneva; 1991.

WILLIAMS, B. The year in hypertension. **JACC.** v. 55, n.1, p. 66-73, 2010.

YU, J.; OGAWA, K.; TOKINAGA, Y.; MIZUMOTO, K.; KAKUTANI, T.; HATANO, Y. The inhibitory effects of isoflurane on protein tyrosine phosphorylation-modulated contraction of rat aortic smooth muscle. **Anesthesiology**, v. 101, p. 1325-31, 2004.